

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
31. Juli 2003 (31.07.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/061550 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K**
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE03/00201
- (22) Internationales Anmeldedatum:
26. Januar 2003 (26.01.2003)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
102 03 135.5 26. Januar 2002 (26.01.2002) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **CALL, Krimhild** [DE/DE]; Heinsberger Strasse 14a,
52531 Übach-Palenberg (DE).
- (72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **CALL, Hans-Peter**
[DE/DE]; Kurfürstenstrasse 6a, 59821 Amsberg II (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AU, BR, CA, CZ, JP,
NZ, PL, US.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR).
- Veröffentlicht:**
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: NOVEL CATALYTIC ACTIVITIES OF OXIDOREDUCTASES FOR OXIDATION AND/OR BLEACHING

(54) Bezeichnung: NEUE KATALYTISCHE AKTIVITÄTEN VON OXIDOREDUKTASEN ZUR OXIDATION UND/ODER BLEICHE

(57) Abstract: An oxidation and/or bleaching system is disclosed, comprising: a) oxidoreductases such as laccases and/or peroxidases applied individually or in combination, in the presence of the corresponding co-substrate H_2O_2 , organic peroxides, per-acids etc., for the activation of compounds of the class of oxohydrocarbons, the class of urazoles and hydrazides, the class of hydantoins and the class of nitriles (cyano) compounds and b) additional carbonyl compounds (ketones, aldehydes) are applied which can form active oxygen species, such as dioxiranes, dioxetanes and peroxy compounds, amongst others, or other reactive compounds, or transition states such as radicals, cationic radicals, anionic radicals or reactive (redox-active) neutral compounds with the activated compounds.

(57) Zusammenfassung: Es wird ein Oxidations- und/oder Bleichsystem beschrieben, bestehend aus : a) Oxidoreduktasen wie Laccasen und/oder Peroxidasen -einzeln oder in Kombination- in Gegenwart ihrer jeweiligen Co-Substrate O_2 , H_2O_2 , organische Peroxide, Persäuren u.a. eingesetzt werden zur Aktivierung von Verbindungen aus der Klasse der Oxokohlenstoffe , aus der Klasse der Urazole und Hydrazide, aus der Klasse der Hydantoine, und der Klasse der Nitril (Cyan)- Verbindungen und dass b) zusätzlich Carbonylverbindungen (Ketone, Aldehyde) eingesetzt werden, die mit den aktivierten Verbindungen aktive Sauerstoffspezies wie Dioxirane, Dioxetane, Peroxyverbindungen u.a. oder andere reaktive Verbindungen oder Übergangsstufen wie Radikale, Kationradikale, Anionradikale oder reaktive (redox-aktive) Neutralverbindungen bilden können.



WO 03/061550 A2

Neue katalytische Aktivitäten von Oxidoreduktasen zur Oxidation und/oder Bleiche

Es ist bekannt, dass Enzyme wie z.B. Peroxidasen, speziell Horseradish Peroxidase (HRP) und die zu den lignolytischen Enzyme gehörige Lignin-Peroxidase und Mangan-Peroxidase und bestimmte Oxidasen wie die (ebenfalls zu den lignolytischen Enzymen zählende) Laccase in Gegenwart von H_2O_2 , organischen Peroxiden oder Persäuren (Peroxidasen) oder Luftsauerstoff oder O_2 (Oxidasen/Laccasen) entsprechende Substrate oxidieren können, wobei das Substratspektrum für diese Enzyme generell sehr groß ist.

In den letzten Jahren wurde eine Reihe von Anwendungen dieser Enzyme publiziert oder zum Patent angemeldet wie z.B. als milde Oxidantien in der chemischen Synthese oder im Lebensmittelbereich, als Oxidantien bei der Entfärbung von Farbstoffen z.B. in Abwässern, als Labeling-Enzyme für spezielle Analyseverfahren und in Biosensoren etc..

Ebenfalls in den letzten Jahren wurden einige Verfahren publiziert und/oder patentiert, wobei diese Enzyme zusammen mit speziellen Mediatorverbindungen eingesetzt wurden (WO96/18770/, WO 94/29510, WO 94/12619, WO 94/12620 und WO 94/12621).

Als Enzyme wurden und werden vorzugsweise Laccasen verwendet, wobei Laccasen heute kommerziell verfügbar sind.

Diese Mediatorverbindungen ermöglichen zum einen die Oxidation von Substraten mit höheren Oxidationspotentialen, die normalerweise nicht oxidiert werden könnten und zum anderen versetzen sie, da sie niedermolekular und frei-diffusibel sind, das Enzym (Laccase) /Mediator-System in die Lage auch Substrate in nicht frei zugänglichen Stoffen wie z.B. Lignin in Zellstofffasern abzubauen. Freies Enzym würde hier keinen signifikanten Abbau wegen seines zu großen Molekulargewichtes (neben der zu geringen Oxidationskraft) bewirken.

Im Falle des Ligninabbaus in Zellstoff konnte bisher „als in vivo System“ nur das Mangan-Peroxidase System (MnP-system), welches in Weißfäulepilzen vorkommt und mit Hilfe des „natürlichen Mediators“ \rightarrow chelatisiertes Mn^{3+} arbeitet, eingesetzt werden. Das System zeigt aber hinsichtlich seiner Performance, der starken H_2O_2 -Abhängigkeit der MnP und der sehr schwierigen Herstellung der MnP entscheidende Nachteile, die eine großtechnische, kommerzielle Nutzung bisher unmöglich machten.

Der Einsatz von Lignin-Peroxidase führt zu keiner Delignifizierung, da bisher noch keine effizienten Mediatoren gefunden wurden und eine Faserpenetration wegen des zu großen Molekulargewichtes (siehe oben) nicht möglich ist.

Trotz der guten Performance der Laccase- Mediator- Systeme (LMS-Systeme) und der guten Zellstoffeigenschaften, die erhalten werden, behindert z.Z. der hohe Preis der Mediatoren, die erforderlichen relativ großen Mengen (die Reaktionen laufen nahezu alle stöchiometrisch und nicht katalytisch ab) und die oftmals ökologischen Risiken (Stofftoxizität) neben dem erhöhten Kostendruck auf der Pulpherstellerseite die breite Anwendung dieser Systeme. Allerdings besteht nach wie vor z.B. in der Zellstoffbleiche für alternative Bleichsysteme dringender Bedarf, v.a. wegen dem Zwang aus Kostengründen enggeschlossene Kreisläufe fahren zu müssen, was mit der ECF- Bleiche (elemental chlorine free) mit Chlordioxid als Hauptbleichagents (→ Korrosionsproblematik) nur schwer möglich ist.

Deshalb ist es das Ziel der vorliegenden Erfindung , ein Oxidations-/Bleichsystem zur Verfügung zu stellen, welches die Nachteile der oben genannten Systeme nicht aufweist.

Dieses wird dadurch gelöst, dass ein Verfahren zur Oxidation und/oder Bleiche zur Verfügung gestellt wird, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass

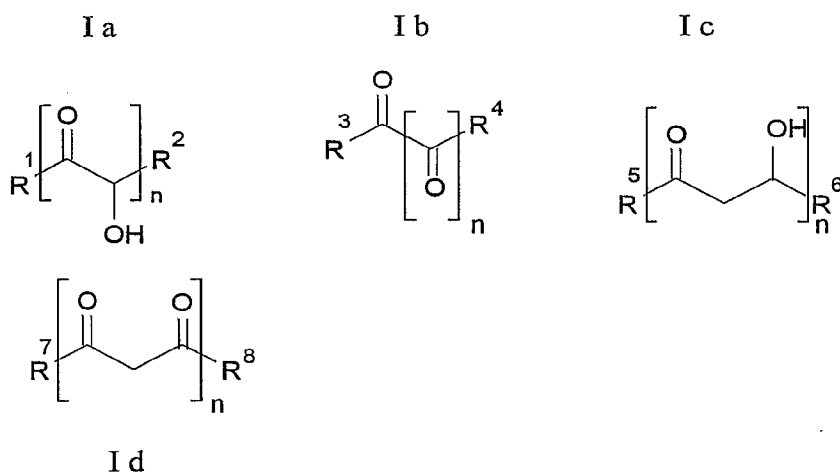
- a) Oxidoreduktasen wie Laccasen und/oder Peroxidasen –einzeln oder in Kombination- in Gegenwart ihrer jeweiligen Co-Substrate O_2 , H_2O_2 , organische Peroxide, Persäuren u.a. eingesetzt werden zur Aktivierung von Verbindungen aus der Klasse der Oxokohlenstoffe , aus der Klasse der Urazole und Hydrazide, aus der Klasse der Hydantoine, und der Klasse der Nitril (Cyan)- Verbindungen und dass
- b) zusätzlich Carbonylverbindungen (Ketone, Aldehyde) eingesetzt werden, die mit den aktivierten Verbindungen aktive Sauerstoffspezies wie Dioxirane, Dioxetane, Peroxyverbindungen u.a. oder (entsprechend z.B. nach der Literatur: K. Deichert et. al., Angewandte Chemie 90, S. 927-938, 1978) andere reaktive Verbindungen oder Übergangsstufen wie Radikale, Kationradikale, Anionradikale oder reaktive (redox-aktive) Neutralverbindungen bilden können

Dabei werden als **Oxokohlenstoffe** solche Verbindungen eingesetzt entsprechend: Chemie in unserer Zeit, 16. Jahrgang 1982, Nr. 2, S. 57- 67 inklusive der dort angeführten Literatur, insbesondere R. West et al., Oxocarbons and their Reactions, in J. Zabicky ed., „The chemistry of the Carbonyl Group“, Wiley (Interscience), 1970;

R. West, Oxocarbons, Academic Press, 1980 und Römpp Chemie Lexikon, Thieme Verlag, 1995, S. 3175- 3177.

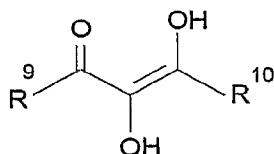
Insbesondere werden eingesetzt:

Verbindungen der allgemeinen Formel I, wie α -Hydroxycarbonylverbindungen der allg. Formel Ia, α -Dicarbonylverbindungen der allgemeinen Formel Ib, β -Hydroxy- carbonyl-verbindungen der allgemeinen Formel Ic, sowie β -Dicarbonylverbindungen der allgemeinen Formel Id,



wobei die Reste R^1 bis R^8 unabhängig voneinander jeweils eine der folgenden Atome der Atomgruppen darstellen können: Wasserstoff, Halogen, Alkyl, Alkyloxy, Aryl, Aryloxy, Hydroxy, Oxo, Formyl, Thioxo, Mercapto, Alkylthio, Sulfeno, Sulfino, Sulfo, Sulfamoyl, Amino, Imino, Amido, Amidino, Hydroxycarbamoyl, Hydroximino, Nitroso, Nitro, Hydrazono und wobei die Reste R^1 und R^2 ; R^3 und R^4 ; R^5 und R^6 ; R^7 und R^8 eine gemeinsame Gruppe bilden können und wobei $n \geq 1$ ist.

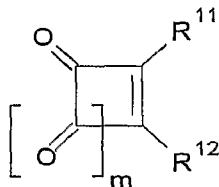
Besonders bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel II, offenkettige Verbindungen mit Doppelbindung (Enole),



II

wobei die Reste R^9 bis R^{10} unabhängig voneinander jeweils eine der folgenden Atome oder Atomgruppen darstellen können: Wasserstoff, Halogen, Alkyl, Alkyloxy, Aryl, Aryloxy, Hydroxy, Oxo, Formyl, Thioxo, Mercapto, Alkylthio, Sulfeno, Sulfino, Sulfo, Sulfamoyl, Amino, Imino, Amido, Amidino, Hydroxycarbamoyl, Hydroximino, Nitroso, Nitro, Hydrazono und wobei die Reste R^9 und R^{10} eine gemeinsame Gruppe bilden können.

Ebenso besonders bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Struktur III, cyclische Verbindungen, Reste nicht OH, Derivate der Quadratsäure, OH-Gruppe derivatisiert,

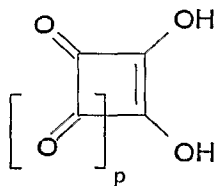


III

wobei die Reste R^{11} bis R^{12} unabhängig voneinander jeweils eine der folgenden Atome oder Atomgruppen darstellen können: Wasserstoff, Halogen, Alkyl, Alkyloxy, Aryl, Aryloxy, Hydroxy, Oxo, Formyl, Thioxo, Mercapto, Alkylthio, Sulfeno, Sulfino, Sulfo, Sulfamoyl, Amino, Imino, Amido, Amidino, Hydroxycarbamoyl, Hydroximino, Nitroso, Nitro, Hydrazono und $m \geq 0$ ist.

Insbesondere bevorzugt sind cyclische Oxokohlenstoffe der allgemeinen Formel IV (allgemeine Summenformel: $H_2C_xO_x$, sowie deren Dianionen der allgemeinen Formel $C_xO_x^{2-}$ wobei $x \geq 3$ ist).

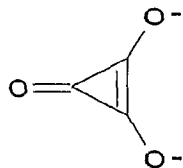
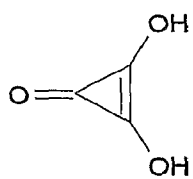
Strukturelement:



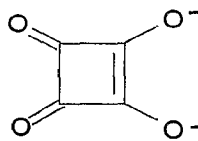
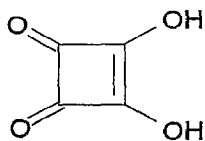
$p \geq 0$.

IV

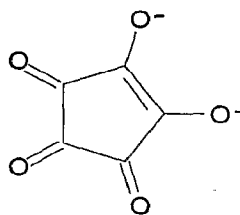
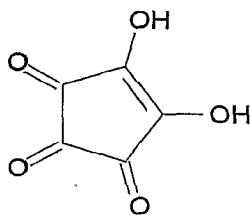
Insbesondere bevorzugt sind:



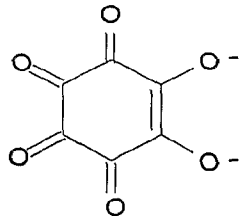
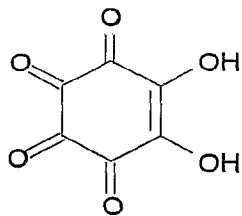
Dreiecksäure



Quadratsäure



Krokonsäure

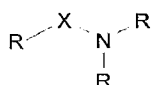


Rhodizonsäure

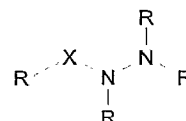
Ebenso insbesondere bevorzugt ist Tetrahydroxy-p-benzochinon, dessen Salze und Derivate sowie die entsprechenden Salze und Derivate der Dreiecksäure, Quadratsäure,

Quadratsäure, Krokonsäure und Rhodizonsäure. Insbesondere sind Derivate der Quadratsäure bevorzugt, die in der Literatur: K.Deuchert et. al., Angewandte Chemie, 90, 1978, S. 927-938 aufgeführt sind.

Aus der Gruppe der Amide wie z.B. der **Hydrazide oder Urazole** werden bevorzugt Verbindungen der allgemeinen Formel V (Amide) und VI (Hydrazide) eingesetzt:



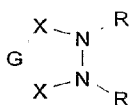
V



VI

wobei X für C=O oder O=S=O steht. (Carbonsäure- oder Sulfonsäureamide). Die Reste R können gleich oder ungleich sein und unabhängig voneinander Wasserstoff, Alkyl, Aryl oder Acylgruppen (Carbonsäure- bzw. Sulfonsäurereste) darstellen. Besonders bevorzugt sind Carbazate wie Methyl-, Ethyl-, tert. Butyl-, Benzylcarbazate und Pyrazole und entsprechende Derivate.

Besonders bevorzugt sind cyclische Hydrazide der allgemeinen Formel VII



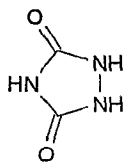
VII

Wobei X für C=O oder O=S=O steht (cyclische Hydrazide von Dicarbonsäuren oder Disulfonsäuren).

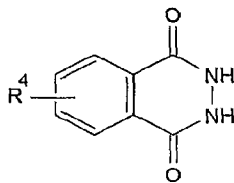
Die Reste R können gleich oder ungleich sein und unabhängig voneinander Wasserstoff, Alkyl, Aryl oder Acylgruppen darstellen.

G steht für folgende Atome oder Atomgruppen: CH₂, CH₂-CH₂, CHR¹-CHR¹, CH=CH, CR²=CR², NH, NR³, C=O, ortho-C₆H₄ (ortho substituierter Phenylrest), ortho C₁₀H₆ (ortho substituierter Naphthylrest), wobei die Reste R¹ bis R³ gleich oder ungleich sein können und unabhängig voneinander Wasserstoff-, alkyl-, aryl- oder acyl-Reste darstellen können

Weiterhin bevorzugt sind Urazole (Formel VIII) und Phthalhydrazide (Formel IX)



VIII



IX

Wobei R^4 gleich Wasserstoff, alkyl, alkoxy, carboxy, nitro oder amino sein kann. Die Reste R können gleich oder ungleich sein und unabhängig voneinander Wasserstoff, alkyl, aryl oder darstellen.

Besonders bevorzugt werden folgende Verbindungen:

Maleic hydrazide, 2-Nitrobenzhydrazide, p-Toluensulphonylhydrazide, Nicotinic hydrazide, Isonicotinic acid hydrazide, 4,4'-Oxydibenzenesulfonylhydrazide, Benzoic hydrazide, Phthalhydrazide, 3-Aminophthal hydrazide, 1-Naphthoic hydrazide, 3-Hydroxy-2-naphthoic hydrazide, Hydroxybenzhydrazide, Oxamic hydrazide, Oxalyl dihydrazide, Terephthalic dihydrazide, Isophthalic-dihydrazide, L-Tyrosine hydrazide, Oxalic-bis-(benzylidenehydrazide), Salicyliden salicylhydrazide, Thiophene-2-carbonic acid hydrazide, Furan-2-carbonic acid hydrazide.

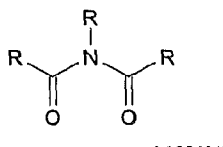
Ganz besonders bevorzugt werden 5-Amino-5-hydroxypyrazole, 2,3-Dihydro-1,4-phthalazindion, Phthalhydrazide, 7-Nitroindazole und 1,2-Dihydropyrazin-3,6-dion.

Ebenfalls besonders bevorzugt werden folgende Verbindungen:

4-Phenylurazol, 1-Phenylurazol, 4-Methylurazol, 4-tert.-Butylurazol und Urazol, davon insbesondere:

4-tert.-Butylurazol und Urazol.

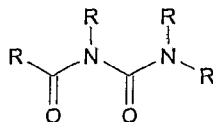
Aus der Gruppe der der **Imide** wie z. B. der **Hydantoine** werden bevorzugt Verbindungen der allgemeinen Formel X (**Imide**):



X

Die Reste R können gleich oder ungleich sein und unabhängig voneinander Wasserstoff, Alkyl-, Aryl-, Acyl- oder Aminogruppen darstellen.

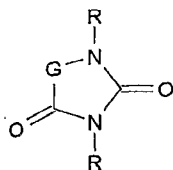
Besonders bevorzugt sind Imide der allgemeinen Formel XI:



XI

Die Reste R können gleich oder ungleich sein und unabhängig voneinander Wasserstoff, Alkyl-, Aryl-, Acyl- oder Aminogruppen darstellen.

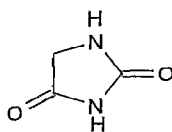
Ebenfalls besonders bevorzugt sind **cyclische Imide** der allgemeinen Formel XII:



XII

Die Reste R können gleich oder ungleich sein und unabhängig voneinander Wasserstoff, Alkyl-, Aryl-, Acyl- oder Aminogruppen darstellen, und wobei die Gruppe G eine der folgenden Atome oder Atomgruppen darstellt: CH_2 , CHR^1 , CR^1R^2 , $\text{CH}=\text{CH}$, $\text{CR}^3=\text{CR}^4$, NH , NR^5 , $\text{C}=\text{O}$, O , und wobei R^1 bis R^5 gleich oder ungleich sein können und unabhängig voneinander eine der folgenden Gruppen darstellen können: Wasserstoff, Alkyl, Aryl, Alkoxy, Carboxy.

Weiterhin besonders bevorzugt sind die **Derivate des Hydantoins XIII** :



XIII

Besonders bevorzugt werden folgende Verbindungen:

Diethyl-5-hydantoyl-phosphonate, 5-Methyl-5-phenyl-hydantoin, Hydantoyl-5-essigsäure, 1,3-Dibromo-5,5-dimethylhydantoin.

Als **Nitrile** werden vorzugsweise Verbindungen nach Römpp Chemie Lexikon, Thieme Verlag, 1995, S. 3012-3013 mit den entsprechenden Zitaten v.a.: Chem. Unserer Zeit, 18, 1984, S.1-16 eingesetzt.

Besonders bevorzugt sind Cyanamid und Dicyandiamid.

Enzyme

Als **Enzyme** werden bevorzugt **Oxidoreduktasen** eingesetzt. Im Sinne der Erfindung umfaßt der Begriff Enzym auch enzymatisch aktive Proteine oder Peptide oder prosthetische Gruppen von Enzymen. Ebenso können die Enzyme von Wildtypstämmen oder von genetisch veränderten Wirtsstämmen stammen.

Zu den besonders bevorzugten Enzymen gehören die Laccasen und die Peroxidasen, wobei die Peroxidasen wegen ihres z.T. wesentlich weiter in das alkalische Milieu hineinreichende pH-Wirkoptimums erhebliche Vorteile bei der Anwendung für die Bleiche von Zellstoff aufweisen können.

Als Enzyme können im erfindungsgemäßen Oxidations-/Bleichsystem

Oxidoreduktasen der Klassen 1.1.1. bis 1.97 gemäß Internationaler Enzym-Nomenklatur: Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (Enzyme Nomenclature, Academic Press, Inc., 1992, S. 24-154) eingesetzt werden.

Vorzugsweise werden folgende Enzyme eingesetzt:

Enzyme der Klasse 1.1, besonders bevorzugt die Enzyme der Klasse 1.1.5 mit Chinonen als Akzeptoren und die Enzyme der Klasse 1.1.3. mit Sauerstoff als Akzeptor, insbesondere bevorzugt in dieser Klasse ist **Cellobiose : quinone-1-oxidoreduktase (1.1.5.1).**

Weiterhin einsetzbar sind Enzyme der Klasse 1.2. Besonders bevorzugt sind hier die Enzyme der Gruppe (1.2.3) mit Sauerstoff als Akzeptor.

Ebenfalls verwendbar sind Enzyme der Klasse 1.3. Hier sind ebenfalls die Enzyme der Klasse (1.3.3) mit Sauerstoff als Akzeptor und (1.3.5) mit Chinonen etc. als Akzeptor besonders bevorzugt.

Insbesondere ist bevorzugt die **Bilirubin Oxidase (1.3.3.5)**.

Auch lassen sich Enzyme der Klasse 1.4 einsetzen. Besonders bevorzugt sind auch hier Enzyme der Klasse 1.4.3 mit Sauerstoff als Akzeptor.

Verwendbar sind ferner Enzyme der Klasse 1.5. Auch hier sind besonders bevorzugt Enzyme mit Sauerstoff (1.5.3) und mit Chinonen (1.5.5) als Akzeptoren.

Zum Einsatz kommen können auch Enzyme der Klasse 1.6.. Besonders bevorzugt sind hier Enzyme der Klasse 1.6.5 mit Chinonen als Akzeptoren.

Einsetzbar sind darüberhinaus Enzyme der Klasse 1.7. Hier sind besonders bevorzugt die Klasse 1.7.3 mit Sauerstoff als Akzeptor.

Verwendet werden können ebenfalls Enzyme der Klasse 1.8.. Besonders bevorzugt ist die Klasse 1.8.3 mit Sauerstoff und (1.8.5) mit Chinonen als Akzeptoren.

Weiterhin einsetzbar sind Enzyme der Klasse 1.9. Besonders bevorzugt ist hier die Gruppe 1.9.3 mit Sauerstoff als Akzeptor (**Cytochromoxidasen**).

Ferner kommen Enzyme der Klasse 1.12 und Enzyme der Klasse 1.13 und 1.14 (**Oxygenasen/ Lipoxigenasen**) in Betracht.

Außerdem einsetzbar sind Enzyme der Klasse 1.15, die auf Superoxid-Radikale als Akzeptoren wirken. Besonders bevorzugt ist hier **Superoxid-Dismutase (1.15.11)**.

Verwendet werden können zudem Enzyme der Klasse 1.16. Besonders bevorzugt sind hier Enzyme der Klasse 1.16.3.1 (**Ferroxidase, z.B. Ceruloplasmin**).

Weiterhin zu nennen sind diejenigen Enzyme, die der Gruppe 1.17 und 1.18 (Wirkung auf reduziertes Ferredoxin als Donor) und 1.19 (Wirkung auf reduziertes Flavodoxin als Donor) und 1.97 (andere Oxidoreduktasen) angehören.

Zu den ganz besonders bevorzugten Enzymen zählen diejenigen der Klasse 1.10. Von den Enzymen dieser Klasse sind insbesondere die Enzyme **Catechol Oxidase (Tyrosinase) (1.10.3.1)**, **L-Ascorbate Oxidase (1.10.3.3)**, **O-Aminophenol**

Oxidase (1.10.3.4) und Laccase (Benzoldiol:Oxygen Oxidoreduktase) (1.10.3.2) bevorzugt, wobei die Laccasen insbesondere bevorzugt sind.

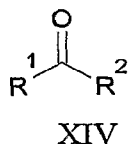
Weiterhin besonders bevorzugt sind die Enzyme der Gruppe 1.11.

Ganz besonders bevorzugt sind hier die **Cytochrom-C Peroxidasen (1.11.1.5), Catalase (1.11.1.6), die Peroxidase (1.11.1.6) die Iodid-Peroxidase (1.11.1.8), die Glutathione-Peroxidase (1.11.1.9), die Chlorid-Peroxidase (1.11.1.10), die L-Ascorbat-Peroxidase (1.11.1.11), die Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathione-Peroxidase (1.11.1.12), die Mangan Peroxidase (1.12.1.13), die Diarylpropan-Peroxidase (Ligninase, Lignin Peroxidase (1.12.1.14).**

Die genannten Enzyme sind käuflich erhältlich oder lassen sich nach Standardverfahren gewinnen. Als Organismen zur Produktion der Enzyme kommen beispielsweise Pflanzen, Bakterien und Pilze in Betracht. Grundsätzlich können sowohl natürlich vorkommende als auch gentechnisch veränderte Organismen Enzymproduzenten sein. Ebenso sind Teile von einzelligen oder mehrzelligen Organismen als Enzym-produzenten denkbar, vor allem Zellkulturen. Insbesondere zur Produktion der bevorzugten Enzyme der Gruppe 1.11.1, und Enzyme der Gruppe 1.10.3, insbesondere zur Produktion der Laccasen und anderen ligninolytischen Enzymen (Lignin-Peroxidasen, Mangan-Peroxidasen), werden beispielsweise Weißfäulepilze etc. wie Pleurotus, Phlebia und Trametes, Agaricus, Lentinus, Botrytis, Cryphonectria, Hypholoma, Heterobasidion, Phanerochaete u.a. verwendet.

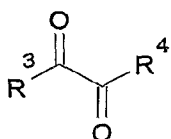
Als **Co-substrate** können beispielsweise Luft, Sauerstoff, Peroxide wie H_2O_2 , organische Peroxide, Persäuren wie die Peressigsäure, Perameisensäure, Perschwefelsäure, Persalpetersäure, Metachlorperoxibenzoesäure, Perverbindungen wie Perborate, Percarbonate, Persulfate oder Sauerstoffspezies wie OH-Radikale, OOH-Radikale, OH^+ -Radikale, Superoxid (O_2^-) und Singulett-Sauerstoff eingesetzt werden.

Als **Carbonylverbindungen (Ketone, Aldehyde)** werden mit Ausnahme von Benzophenonen, Benzilen und aromatischen Ketonen Verbindungen der allgemeinen Formel XIV eingesetzt.

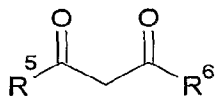


Die Reste R^1 und R^2 können gleich oder ungleich sein und aliphatische oder aromatische Gruppen darstellen. Weiterhin können die Reste R^1 und R^2 einen Ring bilden, der neben Kohlenstoff auch Heteroatome wie Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel enthalten kann.

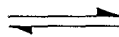
Besonders bevorzugt sind 1,2- Diketone (Formel XV) und 1,3-Diketone (Formel XVI) bzw. Polyketone (Polyketide) sowie die tautomeren Enole (Formel XVII),



XV



XVI



XVII

wobei die Reste R^3 bis R^6 jeweils wieder gleich oder ungleich sein können und aliphatische oder aromatische Gruppen darstellen können. Weiterhin können die Reste R^3 und R^4 und die Reste R^5 und R^6 einen gemeinsamen Ring bilden, der neben Kohlenstoff auch Heteroatome wie Stickstoff, Sauerstoff oder Schwefel enthalten kann.

Dabei ist die Möglichkeit der Tautomerisierung bzw. der Ausbildung eines Resonanz-hybrides von besonderer Bedeutung.

Besonders bevorzugte Ketone sind allgemein Hydroxyketone, α,β - ungesättigte Ketone und Oxicarbonsäuren.

Desweiteren besonders bevorzugt sind Carbonylverbindungen wie:

Aceton, Methylethylketon, Diethylketon, Methyl-n-butylketon, Methyl-isobutylketon, Cyclohexanon, Cyclopentanon, 2-Methylcyclohexanon, 3-Methylcyclohexanon, 4-Methylcyclohexanon, Dihydroxyacetone, Diacetyl (Monohydrazon), Diacetyl (Dihydrazon), Acetophenon, p-Hydroxyacetophenon, 1-Phenylbutan-3-on, Pentan-3-on, Heptan-4-on, Nonan-2-on, Cycloheptanon, Cyclooctanon, Cyclodecanon, Cyclododecanon, Cyclohexanon, 2-Methylcyclohexanon, 3-Methylcyclohexanon, 4-Methylcyclohexanon, Cyclopentanon, 2-

Methylcyclopentanon, 3-Methylcyclopentanon, Dimethylketon, Ethylpropylketon,
 Methylamylketon, Acethylacetone, Pinakolin, Methyl-isopropylketon, Methyl-isoamylketon,
 Ethylamylketon, Diisopropylketon, Diisobutylketon, Methyl-vinylketon, Methyl-
 isopropenylketon, Mesityloxid, Isophoron, Hydroxyacetone, Methoxyacetone, 2,3-Pentandion,
 2,3-Hexandion, Phenylacetone, Propiophenon, Benzophenon, Benzoin, Benzil, 4,4'-
 Dimethoxybenzil, 4'-Methoxyacetophenon, 3'-Methoxyacetophenon, O-Ethylbenzoin, (2-
 Methoxyphenyl)-acetone, (4-Methoxyphenyl)-acetone, Methoxy-2-propanon, Glyoxylsäure,
 Benzylglyoxylat, Benzylacetone, Benzylmethylketon, Cyclohexylmethylketon, 2-Decanon,
 Dicyclohexylketon, Diethylketon, Diisopropylketon, 3,3-Dimethyl-2-butanon,
 Isobutylmethylketon, Isopropylmethylketon,
 2-Methyl-3-heptanon, 5-Methyl-3-heptanon, 6-Methyl-5-hepten-2-on, 5-Methyl-2-hexanon,
 2-Nonaon, 3-Nonaon, 5-Nonaon, 2-Octanon, 3-Octanon, 2-Undecanon, 1,3-Dichloracetone,
 1-Hydroxy-2-butanon, 3-Hydroxy-2-butanon, 4-Hydroxy-4-methyl-2-pentanone, 2-
 Adamantanon, Anthron, Bicyclo(3.2.0)hept-2-en-6-on, *cis*-Bicyclo(3.3.0)octan-3,7-dion, (1S)-
 (-)-Campher, *p*-Chloranil, Cyclobutanon, Cyclododecanon, 1,3-Cyclohexandion,
 1,4-Cyclohexandionmonoethylenketal, Dibenzosuberone, Ethyl-4-oxocyclohexancarboxylat,
 Fluoren-9-on, 1,3-Indandion, Methylcyclohexanon, Phenylcyclohexanon, 4-
 Propylcyclohexanon, 1,2,3,4-Tetrahydro-1-naphthalinon, 1,2,3,4-Tetrahydro-2-naphthalinon,
 3,3,5-Trimethylcyclohexanon, 3-Acetoxy-2-cyclohexen-1-on,
 Benzylidenacetone, (R)-(-)-Carvon, (S)-(-)-Carvon, Curcumin, 2-Cyclohexen-1-on, 2,3-
 Diphenyl-2-cyclopropen-1-on, 2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-on, Isophoron, α -Jonon,
 β -Jonon, 3-Methoxy-2-cyclohexen-1-on, 3-Methyl-2-cyclopenten-1-on, 3-Methyl-3-penten-2-
 on, Methylvinylketone, (R)-(+)-Pulegon, Tetraphenyl-2,4-cyclopentadien-1-on,
 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexen-1,4-dion, 2-Acetylbenzoesäure, 1-Acetylnaphthalin,
 2-Acetylnaphthalin, 3'-Aminoacetophenon, 4'-Aminoacetophenon, 4'-Cyclohexylaceto-
 phenon, 3',4'-Diacetoxyacetophenon, Diacetylbenzol, 2',4'-Dihydroxyacetophenon, 2',5'-
 Dihydroxyacetophenon, 2',6'-Dihydroxyacetophenon, 3,4-Dimethoxyacetophenon,
 2'-Hydroxyacetophenon, 4'-Hydroxyacetophenon, 3'-Methoxyacetophenon, 4'-
 Methoxyacetophenon, 2'-Methylacetophenon, 4'-Methylacetophenon, 2'-Nitroacetophenon,
 3'-Nitroacetophenon, 4'-Nitroacetophenon, 4'-Phenylacetophenon, 3',4',5'-
 Trimethoxyacetophenon, 4'-Aminopropiophenon, Benzoylacetone, Benzoylpropionsäure,
 Benzylidenacetophenon, Cyclohexylphenylketone, Desoxybenzoin, 4',4'-Dimethoxybenzil, 1,3-
 Diphenyl-1,3-propandion, Ethyl-benzoylacetat, Ethyl-(phenylglyoxylat), 4'-

Hydroxypropiophenon, 1,3-Indandion, 1-Indanon, Isopropylphenylketon, 6-Methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-naphthalin-1-on, Methyl-phenylglyoxylat, Phenylglyoxylonitril, Propiophenon, Valerophenon, 2-Acetyl- γ -butyrolacton, 2-Acetylpyrrol, 1-Benzylpiperidin-4-on, Dehydracetsäure, 3,4-Dihydro-4,4-dimethyl-2H-pyran-2-on, 1,4-Dihydro-4-pyridinon, N-Ethoxycarbonyl-4-piperidinon, 2-Furylmethylketon, 5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-4H-pyran-4-on, 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyranon, 3-Indolylmethylketon, Isatin, 1-Methyl-4-piperidinon, Methyl-2-pyridylketon, Methyl-3-pyridylketon, Methyl-4-pyridylketon, Methyl-2-thienylketon, Phenyl-2-pyridylketon, Phenyl-4-pyridylketon, Tetrahydrofuran-2,4-dion, Tetrahydro-4H-pyran-4-on, 2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidon, Xanthon, Acenaphthenchinon, Brenztraubensäure, (1R)-(-)-Campherchinon, (1S)-(+)-Campherchinon, 3,5-Di-tert-butyl-o-benzochinon, 1,2-Dihydroxycyclobuten-3,4-dion, Ethyl-(2-amino-4-thiazolyl)-glyoxylat, Ethyl-(phenylglyoxylat), Ethylpyruvat, 2,3-Hexandion, 3,4-Hexandion, 3-Methyl-2-oxo-buttersäure, 3-Methyl-2-oxo-valeriansäure, 4-Methyl-2-oxo-valeriansäure, Methyl-phenylglyoxylat, 2-Oxobuttersäure, 2,3-Pentandion, 9,10-Phenanthrenchinon, Acetoacetanilid, 2-Acetyl- γ -buttersäurelacton, 2-Acetylcyclopentanon, Allyl-acetoacetat, Benzoylacetone, ter-Butylacetoacetat, 1,3-Cyclopentandion, Diethyl-3-oxoglutarat, Dimethyl-acetylsuccinat, Dimethyl-3-oxoglutarat, 1,3-Diphenyl-1,3-propandion, Ethyl-acetoacetat, Ethyl-benzoylacetat, Ethyl-butyrylacetat, Ethyl-2-oxocyclohexancarboxylat, Ethyl-2-phenylacetoacetat, Methyl-acetoacetat, 2-Methyl-1,3-cyclohexandion, 2-Methyl-1,3-cyclopentandion, Methyl-isobutyrylacetat, Methyl-3-oxopentanoat, Methylpivaloylacetat, 3-Oxoglutarsäure, Tetrahydrofuran-2,4-dion, 2,2,6,6-Tetramethyl-3,5-heptandion, 3-Benzoylpropionsäure, 1,4-Cyclohexandion, Dimethyl-acetylsuccinat, Ethyllävulinat, 2-Aminoanthrachinon, Anthrachinon, p-Benzochinon, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 1,8-Dihydroxyanthrachinon, 2-Ethylanthrachinon, Methyl-p-benzochinon, 1,4-Naphthochinon, Tetramethyl-p-benzochinon, 2,2-Dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion, 2-Benzoylbenzoesäure, 3-Benzoylpropionsäure, 5,6-Dimethoxyphthalaldehydsäure, Glyoxylsäure, Lävölsäure, Methyl-(trans-4-oxo-2-pentenoat), Phthalaldehydsäure, Terephthalaldehydsäure, Dibutylmaleinat, Dibuthylsuccinat, Dibutylphthalat, Dicyclohexylphthalat, Diethyl-acetamidomalonat, Diethyladipat, Diethyl-Benzylmalonat, Diethyl-butylmalonat, Diethyl-ethoxymethylen-malonat, Diethylethylmalonat, Diethylfumarat, Diethylglutarat, Diethyl-isopropylidenmalonat, Diethyl-maleinat, Diethylmalonat, Diethyl-methylmalonat, Diethyloxalat, Diethyl-3-oxoglutarat, Diethyl-phenylmalonat, Diethylphthalat, Diethyl-pimelat, Diethyl-sebacat, Diethyl-suberat, Diethyl-succinat, Diisobutylphthalat, Dimethyl-

acethylendicarboxylat, Dimethyl-acetylsuccinat, Dimethyladipat, Dimethyl-2-minoterephthalat, Dimethylfumarat, Dimethylglutaconat, Dimethylglutarat, Dimethylisophthalat, Dimethylmalonat, Dimethyl-methoxymalonat, Dimethyl-(methylsuccinat), Dimethyloxalat, Dimethyl-3-oxo-glutarat, Dimethylphthalat, Dimethylsuccinat, Dimethylterephthalat, Ethylenglycoldiacetat, Ethylenglycoldimethacrylat, Monoethylfumarat, Monoethylmalonat, Monoethyladipat, Monomethylphthalat, Monomethylpimelat, Monomethylterephthalat, 1,2-Propylenglycoldiacetat, Triethylmethantricarboxylat, Trimethyl-1,2,3-propantricarboxylat, 3-Acetoxy-2-cyclohexen-1-on, Allyl-acetoacetat, Allyl-(cyanacetat), Benzylacetoacetat, tert-Butylacetoacetat, Butylcyanacetat, Chlorogensäure-Hemihydrat, Cumarin-3-Carbonsäure, Diethylethoxycarbonylmethanphosphonat, Dodecylgallat, Dodecyl-3,4,5-trihydroxybenzoat, (2,3-Epoxypropyl)-methacrylat, (2-Ethoxyethyl)acetat, Ethyl-(acetamidocyanacetat), Ethylacetoacetat, Ethyl-2-aminobenzoat, Ethyl-(3-aminopyrazol-4-carboxylat), Ethylbenzoxylacetat, Ethyl-butyrylacetat, Ethyl-cyanacetat, Ethyl-(2-cyan-3-ethoxyacrylat), Ethylcyanformiat, Ethyl-2-cyanpropionat, Ethyl-(3,3-diethoxypropionat), Ethyl-1,3-dithian-2-carboxylat, Ethyl-(2-ethoxyacetat), Ethyl-2-furancarboxylat, Ethylgallat, Ethyllävulinat, Ethylmandelat, Ethyl-2-methylactat, Ethyl-4-nitrocinnamat, Ethyloxamat, Ethyl-2-oxocyclohexancarboxylat, Ethyl-4-oxocyclohexancarboxylat, Ethyl-5-oxohexanoat, Ethyl-2-phenylacetoacetat, Ethyl-2-phenylacetoacetat, Ethyl-(phenylglyoxylat), Ethyl-4-piperidincarboxylat, Ethyl-2-pyridincarboxylat, Ethyl-3-pyridincarboxylat, Ethyl-4-pyridincarboxylat, Ethylpyruvat, Ethylthioglycolat, Ethyl-3,4,5-trihydroxybenzoat, (2-Hydroxyethyl)-methacrylat, (2-Hydroxypropyl)-methacrylat, 3-Indolacetat, (2-Methoxyethyl)-acetat, (1-Methoxy-2-propyl)-acetat, Methylacetoacetat, Methyl-2-aminoabenzat, Methyl-3-aminocroconat, Methyl-cyanacetat, Methyl-(4-cyanbenzoat), Methyl-(4-formylbenzoat), Methyl-2-furancarboxylat, Methyl-isobutyrylacetat, Methyl-methoxyacetat, Methyl-2-methoxybenzoat, Methyl-3-oxopentanoat, Methyl-phenylglyoxylat, Methyl-phenylsulfinylacetat, Methylpivaloylacetat, Methyl-3-pyridincarboxylat, 5-Nitrofurfurylidendiacetat, Propylgallat, Propyl-3,4,5-trihydroxybenzoat, Methyl-(3-methylthiopropionat), Acetamid, Acetanilid, Benzamid, Benzanilid, N,N-Diethylacetamid, N,N-Dimethylformamid, N,N-Diethyl-3-methylbenzamid, Diethyltoluamid, N,N-Dimethylacetamid, N,N-Dimethylformamid, N,N-Diphenylacetamid, N-Methylformamid, N-Methylformanilid, N-Acetylthioharnstoff, Adipinsäurediamid, 2-Aminobenzamid, 4-Aminobenzamid, Bernsteinsäurediamid, Malonsäurediamid,

N,N'-Methylen-diäcrylamid, Oxalsäurediamid, Pyrazin-2-carbonsäureamid, Pyridin-4-carbonsäureamid, N,N,N',N'-Tetramethylbernsteinsäurediamid, N,N,N',N',-Tetramethylglutarsäurediamid, Acetoacetanilid, Benzohydroxamsäure, Cyanacetamid, 2-Ethoxybenzamid, Diethyl-acetamidomalonat, Ethyl-(acetamidocyanacetat), Ethyloxamat, Hippursäure-Na-Salz, N-(Hydroxymethyl)-acrylamid, L-(-) Michsäureamid, 2'-Nitroacetanilid, 3'-Nitroacetanilid, 4'-Nitroacetanilid, Paracetamol, Piperin, Salicylanilid, 2-Acetyl- γ -butyrolacton, γ -Butyrolacton, ϵ -Caprolacton, Dihydrocumarin, 4-Hydroxycumarin, 2(5H)-Furanon, 2,5-Dihydro-5-methoxy-2-furanon, Phthalid, Tetrahydrofuran-2,4-dion, 2,2,6-Trimethyl-1,3-dioxin-4-on, γ -Valerolacton, 4-Amino-1,3-dimethyluracil, Barbitursäure, O-Benzyl-oxy-carbonyl-N-hydroxy-succinimid, Bernsteinsäureimid, 3,6-Dimethylpiperazin-2,5-dion, 5,5-Diphenylhydantoin, Ethyl-1,3-dioxoisindolin-2-carboxylat, 9-Fluorenylmethylsuccinimidyl-carbonat, Hydantoin, Maleinimid, 3-Methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-on, 1-Methyl-2-pyrrolidon, Methyluracil, 6-Methyluracil, Oxindol, Phenytoin, 1 (2H)-Phthalazinon, Phthalimid, 2,5-Piperazindion, 2-Piperidinon, 2-Pyrrolidon, Rhodanin, Saccharin, 1,2,3,6-Tetrahydrophthalimid, 1,2,3,4-Tetrahydro-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4-dion, 1,5,5-Trimethylhydantoin, 1-Vinyl-2-pyrrolidon, Di-tert-butyl-dicarbonat, Diethylcarbonat, Dimethylcarbonat, Dimethyldicarbonat, Diphenylcarbonat, 4,5-Diphenyl-1,3-dioxol-2-on, 4,6-Diphenylthieno(3,4-d)-1,3-dioxol-2-on-5,5-dioxid, Ethylencarbonat, Magnesium-methoxid-methyl-carbonat, Monomethylcarbonat-Na-Salz, Propylencarbonat, N-Allylharnstoff, Azodicarbonsäurediamid, N-Benzylharnstoff, Biuret, 1,1'-Carbonyldiimidazol, N,N-Dimethylharnstoff, N-Ethylharnstoff, N-Formylharnstoff, Harnstoff, n-Methylharnstoff, N-Phenylharnstoff, 4-Phenylsemicarbazid, Tetramethylharnstoff, Semicarbazidhydrochlorid, Diethyl-azodicarboxylat, Methylcarbammat, 1-(4-Methoxyphenyl)-2-(2-methoxy-phenoxy)-ethanon, 1-(4-Methoxyphenyl)-2-(2-methoxy-phenoxy)-ethanol.

Weiterhin bevorzugt sind Anhydride wie:

Benzoesäureanhydrid, Benzol-1,2,4,5-tetracarbonsäure-1,2,4,5-dianhydrid, 3,3',4,4'-Benzophenontetracarbonsäureanhydrid, Bernsteinsäureanhydrid, Buttersäureanhydrid, Crotonsäureanhydrid, cis-1,2-Cyclohexandicarbonsäureanhydrid, Di-tert-butyl-dicarbonat, Dimethyldicarbonat, Dodecenylnbernsteinsäureanhydrid, Epicon B4400, Essigsäureanhydrid, Glutarsäureanhydrid, Hexansäureanhydrid, Isatosäureanhydrid, Isobuttersäureanhydrid, Isovaleriansäureanhydrid, Maleinsäureanhydrid, Naphthalin-1,8-dicarbonsäureanhydrid,

3-Nitrophthalsäureanhydrid, 5-Norboren-2,3-dicarbonsäureanhydrid, Phthalsäureanhydrid, 2-Phenylbuttersäureanhydrid, Pivalinsäureanhydrid, Propionsäureanhydrid, cis-1,2,3,6-Tetrahydrophthalsäureanhydrid und Valeriansäureanhydrid.

Anwendungsgebiete des erfindungsgemäßen Oxidations- bzw. Bleichsystems ist v.a. der Einsatz in der **Zellstoffbleiche oder Holzstoffbleiche**, der Einsatz zur **oxidativen Behandlung von Abwässern aller Art**, der Einsatz bei der **Herstellung von Holzverbundstoffen**, der Einsatz als **enzymatisches Deinksystem**, der Einsatz als **oxidatives Agens bei der organischen Synthese**, der Einsatz als **Bleichsystem in Waschmitteln**, der Einsatz als Bleichmittel oder **Oxidationsmittel in der Textilindustrie (z.B. stone washing und Bleiche von Geweben)** inklusive generelle oxidative Behandlung von Wolle (z.B. Bleiche) und der Einsatz bei der **Kohleverflüssigung** von Braun- oder Steinkohle sein, da das neue erfindungsmäßige System viele der Nachteile von rein chemischen Systemen (z.B. erhebliche Umweltprobleme) oder anderen enzymatischen Systemen (oft zu geringe Performance und hohe Kosten) nicht aufweist. Dabei soll die Einsatzmöglichkeit des Systems nicht auf diese Anwendungen beschränkt sein. Es wurde nun völlig überraschenderweise gefunden, dass bei Anwendung des erfindungsgemäßen Oxidations und/oder Bleichsystems, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass

- a) Oxidoreduktasen wie Laccasen und/oder Peroxidasen –einzeln oder in Kombination- in Gegenwart ihrer jeweiligen Co-Substrate O_2 , H_2O_2 , organische Peroxide, Persäuren u.a. eingesetzt werden zur Aktivierung von Verbindungen aus der Klasse der Oxokohlenstoffe, aus der Klasse der Urazole und Hydrazide, aus der Klasse der Hydantoine, und der Klasse der Nitril (Cyan)- Verbindungen und dass
- b) zusätzlich Carbonylverbindungen (Ketone, Aldehyde) eingesetzt werden, die mit den aktivierten Verbindungen aktive Sauerstoffspezies wie Dioxirane, Dioxetane, Peroxyverbindungen u.a. oder (entsprechend z.B. nach der Literatur: K. Deuchert et. al., Angewandte Chemie 90, S. 927-938, 1978) andere reaktive Verbindungen oder Übergangsstufen wie Radikale, Kationradikale, Anionradikale oder reaktive (redox-aktive) Neutralverbindungen bilden können,

eine **Delignifizierung von Zellstoff** (erhebliche Reduktion der Kappazahl) erzielt wurde.

Des Weiteren konnte überraschenderweise eine erhebliche Bleichwirkung bei der **Bleiche von Holzstoffen** und Bleiche von **Stoffen nach Deinkingprozessen** gefunden werden.

Bei der **oxidativen Behandlung von Abwässern**, wie Abwässern aus der Holzstoffherstellung (Holzschliff, Refinerstoff), aus der Zellstoffindustrie und farbstoffbelasteten Abwässern, z.B. der Textilindustrie, konnte ebenso überraschenderweise eine oxidative Polymerisation von Lignin und/oder ligninähnlichen Stoffen und/oder Entfärbung nachgewiesen werden.

Ebenfalls konnte diese oxidative Polymerisation von Lignin und/oder ligninähnlichen Stoffen überraschenderweise beim Einsatz bei der **Herstellung von Holzverbundstoffen** (Binder- und/oder Kleberherstellung durch oxidative Polymerisation der vorhandenen Polyphenylpropankörper) bestätigt werden.

Darüber hinaus konnte ebenso überraschenderweise eine **Druckfarbenablösung beim Deinkingprozess** (wahrscheinlich durch Quellung der ligninhaltigen Altpapierfasern verursacht) nachgewiesen werden.

Ebenso wurde überraschenderweise **Kohleverflüssigungseigenschaften** bei der Behandlung von Braun- oder Steinkohle gefunden.

Daneben wurde ebenfalls überraschenderweise eine hohe und selektive Oxidationskraft beim Einsatz als „**Oxidationsmittel**“ in der organischen Synthese,

eine starke Bleichkraft beim **Bleichmitteleinsatz in Waschmitteln** und bei der generellen oxidativen Behandlung (z.B. Bleiche) von **Textilgeweben inklusive Wolle, bzw. bei der speziellen Bleiche beim Einsatz bei Stone-wash-Prozessen**, nämlich als Ersatz für die mechanische Farbentfernung und/oder Nachbleiche bei diesen Prozessen, nachgewiesen.

Das in der Deutschen Anmeldung: DE 198 20 947, 9-45 beschriebene Methode unterscheidet sich von der vorliegenden Erfindung vor allem in der Zugabe von geeigneten Ketonverbindungen, die im erfindungsgemäßen System in der Regel aliphatisch sind. Es werden keine Benzophenone, Benzile und organische Carbonylverbindungen, die dort aufgeführt sind, verwendet, da diese nachweislich wirkungslos sind. Zudem ist als großer Vorteil keine Druckbeaufschlagung mit O₂ nötig. Des weiteren konnte nachgewiesen werden, dass durch das erfindungsgemäße System bei Zugabe von geeigneter Ketonen und z.B. Oxokohlenstoffen zum ersten Mal eine katalytische Oxidierung bei sehr hoher Performance (z.B. 30% Delignifizierung von Zellstoffen bei Zugabe

von nur 200 g Oxokohlenstoff pro Tonne Zellstoff möglich ist mit den entsprechenden kommerziellen Vorteilen.

Außerdem kann es von Vorteil sein primäre, sekundäre oder tertiäre Amine zuzugeben (siehe entsprechend, die z.B. nach der Literatur: K. Deuchert et. al., Angewandte Chemie 90, S. 927-938, 1978) beschrieben sind, um gewisse Radikaltypen zu erhalten (z.B. Wurstertyp ähnliche etc.)

Als Zusatzsysteme zu dem erfindungsgemäßen Oxidations- und/oder Bleichsystem können in gleichzeitiger Kombination oder in beliebiger zeitlicher Reihenfolge das in **WO98/59108** und **DE 101 26 988.9** beschriebene **HOS-system** (hydrolase mediated oxidation system), bestehend aus Lipasen oder ähnlichen Hydrolasen, Peroxid, Ketonen und Fettsäuren/Fette sowie die in DE 101 26 988.9 beschriebenen Oxidationssysteme mit den aktiven Oxidantien 1) Peroxinitrit (mit den Precursen wie Na-Nitrit etc. 2) Ferrocen/Peroxid, 3) aktiviertem Sulfit, Superoxid und Ketonen → Dioxiranbildung bzw. 4) Organosulfonsäuren/Peroxid und Ketonen → Dioxiranbildung oder die Systeme mit Laccasen (Oxidoreduktasen) + NO- NOH- und/oder HRNOH- Verbindungen [ebenfalls in **WO98/59108** und **DE 101 26 988.9** beschrieben] eingesetzt werden.

Beschreibung der verschiedenen Anwendungen des erfindungsgemäßen enzymatischen Oxidations- und/oder Bleichsystems

- I) Einsatz in der Zellstoff/Holzstoffbleiche,**
- II) Einsatz:**
 - a) bei der Behandlung von v.a. Holzstoffabwässern der Papierindustrie und**
 - b) Abwässer anderer Industriezweige,**
- III) Einsatz bei der Herstellung von Ligninlösungen oder Gelen, von entsprechenden Bindern/Klebern und von Holzverbundstoffen,**
- IV) Einsatz als enzymatisches Deinksystem,**
- V) Einsatz als Oxidationssystem bei der organischen Synthese**
- VI) Einsatz als Bleichmittel in Waschmitteln**
- VII) Einsatz in der Bleiche/Entfärbung von Textilgeweben.**
- VIII) Einsatz bei der Verflüssigung von Kohle**

I) Einsatz des erfindungsgemäßen enzymatischen Oxidations- und/oder Bleichsystems in der Zellstoff/Holzstoffbleiche

Als heute hauptsächlich zur Zellstoffherstellung verwendete Verfahren sind das Sulfat- und das Sulfitverfahren zu nennen. Mit beiden Verfahren wird unter Kochung und unter Druck Zellstoff erzeugt. Das Sulfat-Verfahren arbeitet unter Zusatz von NaOH und Na₂S, während im Sulfit-Verfahren Ca(HSO₃)₂ + SO₂ zur Anwendung kommen, bzw. heute wegen ihrer besseren Löslichkeit die Natrium- oder Ammoniumsalze des Hydrogensulfits.

Alle Verfahren haben als Hauptziel die Entfernung des Lignins aus dem verwendeten Pflanzenmaterial, Holz oder Einjahrespflanzen.

Das Lignin, das mit der Cellulose und der Hemicellulose den Hauptbestandteil des Pflanzenmaterials (Stengel oder Stamm) ausmacht, muss entfernt werden, da es sonst nicht möglich ist, nicht vergilbende und mechanisch hochbelastbare Papiere herzustellen.

Die Holzstofferzeugungsverfahren arbeiten mit Steinschleifern (Holzschliff) oder mit Refinern (TMP), die das Holz nach entsprechender Vorbehandlung (chemisch, thermisch oder chemisch-thermisch) durch Mahlen defibrillieren.

Diese Holzstoffe besitzen noch einen Großteil des Lignins. Sie werden v. a. für die Herstellung von Zeitungen, Illustrierten etc. verwendet.

Seit einigen Jahren werden die Möglichkeiten des Einsatzes von Enzymen für den Ligninabbau erforscht. Der Wirkmechanismus derartiger lignolytischer Systeme ist erst vor wenigen Jahren aufgeklärt worden, als es gelang, durch geeignete Anzuchtbedingungen und Induktorzusätze bei dem Weißfäulepilz *Phanerochaete chrysosporium* zu ausreichenden Enzymmengen zu kommen. Hierbei wurden die bis dahin unbekannten Ligninperoxidasen und Manganperoxidasen entdeckt. Da *Phanerochaete chrysosporium* ein sehr effektiver Ligninabbauer ist, versuchte man dessen Enzyme zu isolieren und in gereinigter Form für den Ligninabbau zu verwenden. Dies gelang jedoch nicht, da sich herausstellte, dass die Enzyme vor allem zu einer Repolymerisation des Lignins und nicht zu dessen Abbau führen.

Ähnliches gilt auch für andere lignolytische Enzymspezies wie Laccasen, die das Lignin mit Hilfe von Sauerstoff anstelle von Wasserstoffperoxid oxidativ abbauen. Es konnte festgestellt werden, dass es in allen Fällen zu ähnlichen Prozessen kommt. Es werden nämlich Radikale gebildet, die wieder selbst miteinander reagieren und somit zur Polymerisation führen.

So gibt es heute nur Verfahren, die mit in-vivo Systemen arbeiten (Pilzsysteme).

Hauptschwerpunkte von Optimierungsversuchen sind das sogenannte **Biopulping** und das **Biobleaching**.

Unter **Biopulping** versteht man die Behandlung von Holzhackschnitzeln mit lebenden Pilzsystemen.

Es gibt 2 Arten von Applikationsformen:

1. Vorbehandlung von Hackschnitzeln vor dem Refinern oder Mahlen zum Einsparen von Energie bei der Herstellung von Holzstoffen (z.B. TMP oder Holzschliff).

Ein Vorteil ist die meist vorhandene Verbesserung der mechanischen Eigenschaften des Stoffes, ein Nachteil die schlechtere Endweiße.

2. Vorbehandlung von Hackschnitzeln (Softwood/Hardwood) vor der Zellstoffkochung (Kraftprozess, Sulfitprozess).

Hier ist das Ziel, die Reduzierung von Kochchemikalien, die Verbesserung der Kochkapazität und "extended cooking".

Als Vorteile werden auch eine verbesserte Kappareduzierung nach dem Kochen im Vergleich zu einem Kochen ohne Vorbehandlung erreicht.

Nachteile dieser Verfahren sind eindeutig die langen Behandlungszeiten (mehrere Wochen) und v.a. die nicht gelöste Kontaminierungsgefahr während der Behandlung, wenn man auf die wohl unwirtschaftliche Sterilisation der Hackschnitzel verzichten will.

Das **Biobleaching** arbeitet ebenfalls mit in-vivo Systemen. Der gekochte Zellstoff (Softwood/Hardwood) wird vor der Bleiche mit dem Pilz beimpft und für Tage bis Wochen behandelt. Nur nach dieser langen Behandlungszeit zeigt sich eine signifikante Kappzahlerniedrigung und Weißesteigerung, was den Prozess unwirtschaftlich für eine Implementierung in den gängigen Bleichsequenzen macht.

Eine weitere, meist mit immobilisierten Pilzsystemen, durchgeführte Applikation ist die **Behandlung von Zellstofffabrikationsabwässern**, insbesondere Bleichereiabwässern zu deren Entfärbung und Reduzierung des AOX (Reduzierung von chlorierten Verbindungen im Abwasser, die Chlor- oder Chlordioxid-Bleichstufen verursachen).

Darüber hinaus ist bekannt, Hemicellulasen u.a. Xylanasen, Mannanasen als "**Bleichbooster**" einzusetzen.

Diese Enzyme sollen hauptsächlich gegen das nach dem Kochprozess das Restlignin zum Teil überdeckende reprecipitierte Xylan wirken und durch dessen Abbau die Zugänglichkeit des Lignins für die in den nachfolgenden Bleichsequenzen angewendeten Bleichchemikalien (v.a. Chlordioxid) erhöhen. Die im Labor nachgewiesenen Einsparungen von Bleichchemikalien wurden in großem Maßstab nur bedingt bestätigt, so dass man diesen Enzymtyp allenfalls als Bleichadditiv einstufen kann.

In der Anmeldung PCT/EP87/00635 wird ein System zur Entfernung von Lignin aus lignincellulosehaltigem Material unter gleichzeitiger Bleiche beschrieben, welches mit lignolytischen Enzymen aus Weißfäulepilzen unter Zusatz von Reduktions- und Oxidationsmitteln und phenolischen Verbindungen als Mediatoren arbeitet.

In der DE 4008893C2 werden zusätzlich zum Red/Ox-System "Mimic Substanzen", die das aktive Zentrum (prothetische Gruppe) von lignolytischen Enzymen simulieren, zugesetzt. So konnte eine erhebliche Performanceverbesserung erzielt werden.

In der Anmeldung PCT/EP92/01086 wird als zusätzliche Verbesserung eine Redoxkaskade mit Hilfe von im Oxidationspotential "abgestimmten" phenolischen oder nichtphenolischen Aromaten eingesetzt.

Bei allen drei Verfahren ist die Limitierung für einen großtechnischen Einsatz die Anwendbarkeit bei geringen Stoffdichten (bis maximal 4%) und bei den beiden letzten Anmeldungen zusätzlich die Gefahr des "Ausleachens" von Metallen beim Einsatz der Chelatverbindungen, die v.a. bei nachgeschalteten Peroxidbleichstufen zur Zerstörung des Peroxids führen können.

Aus WO 94/12619, WO 94/12620 und WO 94/12621 sind Verfahren bekannt, bei welchen die Aktivität von Peroxidase mittels sogenannter Enhancer-Substanzen gefördert wird.

Die Enhancer-Substanzen werden in WO 94/12619 anhand ihrer Halbwertslebensdauer charakterisiert.

Gemäß WO 94/12620 sind Enhancer-Substanzen durch die Formel $A=N-N=B$ charakterisiert, wobei A und B jeweils definierte cyclische Reste sind.

Gemäß WO 94/12620 sind Enhancer-Substanzen organische Chemikalien, die mindestens zwei aromatische Ringe enthalten, von denen zumindest einer mit jeweils definierten Resten substituiert ist.

Alle drei Anmeldungen betreffen "dye transfer inhibition" und den Einsatz der jeweiligen Enhancer-Substanzen zusammen mit Peroxidasen als Detergent-Additiv oder Detergent-Zusammensetzung im Waschmittelbereich.

Zwar wird in der Beschreibung der Anmeldung auf eine Verwendbarkeit zum Behandeln von Lignin verwiesen, aber eigene Versuche mit den in den Anmeldungen konkret offenbarten Substanzen zeigten, dass sie als Mediatoren zur Steigerung der Bleichwirkung der Peroxidasen beim Behandeln von ligninhaltigen Materialien keine Wirkung zeigten!

WO 94/29510 und WO 96/ 18770 beschreiben ein Verfahren zur enzymatischen Delignifizierung, bei dem Enzyme zusammen mit Mediatoren eingesetzt werden. Als Mediatoren werden allgemein Verbindungen mit der Struktur NO-, NOH- oder HRNOH offenbart. Von den in WO 94/29510 und WO 96/ 18770 aufgeführten Mediatoren liefert 1-Hydroxy-1H-benzotriazol (HBT) die besten Ergebnisse in der Delignifizierung. HBT hat jedoch verschiedene Nachteile:

- * Es ist nur zu relativ hohen Preisen und nicht in hinreichenden Mengen verfügbar.
- * Es reagiert unter Delignifizierungsbedingungen zu 1H-Benzotriazol und gefärbten anderen Produkten.
- * Diese Verbindung ist relativ schlecht abbaubar und kann in größeren Mengen eine Umweltbelastung darstellen.
- * Es führt in gewissem Umfang zu einer Schädigung von Enzymen.
- * Seine Delignifizierungsgeschwindigkeit ist nicht allzu hoch.

Weitere Mediatoren des beschriebenen NO-, NOH- und HRN-OH-Typs zeigen die meisten dieser Nachteile nicht, haben aber immer noch den Nachteil des relativ hohen Chemikalieneinsatzes, wobei die eingesetzten Chemikalien v.a. auch durch ihre physiologische Reaktivität nicht ganz unbedenklich sein können (meist NO-Radikalbildung). Es ist daher wünschenswert, Systeme zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen zur Verfügung zu stellen, die die genannten Nachteile nicht oder in geringerem Maße aufweisen.

Dies kann durch Anwendung des erfindungsgemäßen Oxidations- und Bleichsystems

erreicht werden, das diese Nachteile nicht hat, d.h. es wurde völlig überraschenderweise gefunden, dass beim Einsatz des erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidationssystems bei spezieller Kombination der Komponenten eine im Vergleich zu den oben geschilderten enzymatischen Systemen überlegene Effizienz erreicht werden kann.

IIa) Der Einsatz des erfindungsgemäßen enzymatischen Oxidations- und/oder Bleichsystems zur enzymatischen Behandlung von Spezialabwässern (Papierindustrieabwässer z.B. aus Holzschliff- Anlagen oder Refineranlagen), bzw. II b) Einsatz zur enzymatischen Behandlung von Abwässern anderer Industriezweige

Oxidasen und Peroxidasen weisen im Gegensatz zu den meisten Enzymen eine geringe Substratspezifität auf, d.h. sie können ein breites Spektrum von Substanzen, im Normalfall phenolischer Natur, umsetzen. Ohne Mediatoren neigen die Oxidasen, aber auch viele Peroxidasen dazu, phenolische Substanzen radikalisch zu polymerisieren, eine Eigenschaft, die z.B. der zu den Oxidasen gehörenden Laccase auch in der Natur zugeschrieben wird. Diese Fähigkeit, geeignete Stoffe wie z.B. Lignine zu polymerisieren, d.h. die entsprechenden Moleküle durch „Kopplungsreaktionen“ zu vergrößern kann, z.B. zur Behandlung ligninhaltiger Abwässer der Papierindustrie wie TMP-Abwässer (Abwässer aus der Herstellung von thermomechanical pulp mittels Refinern) sowie Schleifereiabwässer aus Holzschliffanlagen genutzt werden.

Die in diesen Abwässern enthaltenen wasserlöslichen Ligninverbindungen (Polyphenol-propankörper) sind hauptsächlich verantwortlich für den hohen CSB (Chemischen Sauerstoffbedarf = hohe Belastung mit organischem Material) und können mit herkömmlicher Technologie nicht entfernt werden. In der Kläranlage und den nachfolgenden Gewässern sind sie nicht oder nur sehr langsam abbaubar. Diese Verbindungen können sogar bei zu hohen Konzentrationen hemmend auf die Bakterien einer Kläranlage wirken und zu Störungen führen. Die Enzymwirkung ist bei dieser Anwendung sofort durch eine rasche Eintrübung des behandelten Abwassers zu erkennen, verursacht durch die vergrößerten und damit unlöslich werdenden Ligninmoleküle. So durch enzymatische Katalyse im Molekulargewicht vergrößert, lassen sich die Zielmoleküle (polymerisiertes Lignin) durch entsprechende Behandlungen (Flokkulation, Fällung z.B. mit Aluminiumsulfat/Natriumaluminat, eventuell unter Zugabe von Polyelektrolyten /kationisch oder anionisch oder Sedimentation) entfernen. Das Abwasser weist danach einen deutlich reduzierten CSB auf. Es verursacht somit bei der Einleitung eine

geringere Umweltbelastungen, bzw. erhöht die Sicherheit, unter den gestatteten CSB-Belastungsgrenzen zu bleiben, was v.a. bei einer „Fahrweise“ am Limit, was nicht selten der Fall ist, wichtig ist.

Bei dieser Behandlung mit z.B. nur Laccase stellt allerdings der Aufwand für die Entfernung der Reaktionsprodukte der enzymatischen Behandlung durch Flokkulierung, Sedimentation oder Fällung oder Kombinationen mehrerer Methoden den bei weitem überwiegenden Anteil der Kosten für den Gesamtprozess dar.

Es wurde nun völlig überraschenderweise gefunden, dass beim Einsatz der erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidations- und Bleichsysteme bei spezieller Kombination der Komponenten eine im Vergleich zu den oben geschilderten enzymatischen Systemen überlegene Effizienz erreicht werden kann, d.h. die erfindungsmäßigen Verfahren stellen gegenüber den oben genannten Systemen mit Oxidoreduktasen (wie z.B. Laccasen) als Oxidationskatalysatoren wesentlich verbesserte Systeme dar, deren Vorteile v.a. in ihrer höheren Oxidationskraft, in der Verwendung von sehr leicht abbaubaren Systembestandteilen liegt, die zwar den CSB kurzfristig erhöhen, allerdings in den nachfolgenden Kläranlageschritten leicht zu entfernen sind.

Zu diesen Systemen werden weitere spezielle Verbindungen (**Polymerisationskatalysatoren**) gegeben, die als Kondensationskerne dienen und die oxidative Ligninpolymerisation wesentlich verstärken können, so dass ein Hauptziel dieser enzymatischen Abwasserbehandlung, der möglichst geringe Einsatz von kostenintensivem Fällmittel, erreicht werden kann.

Auch alle anderen Abwässer von Industriezweigen, in denen phenolische oder generell oxidierbare Substanzen enthalten sind (z.B. Lignin, Farbstoffe etc.), können prinzipiell mit z.B. den oben genannten Oxidoreduktasen behandelt werden. Es kommen also z.B. Abwässer von Keltereien, Olivenmühlen, von Färbereien im Bereich der Textilindustrie, Abwässer aus Zellstoffwerken etc. für eine solche Behandlung in Frage. Allerdings sollten möglichst die belasteten Teilströme vor Vermischung mit anderen Abwässern behandelt werden, um optimale Effizienz zu erzielen.

Auch hier wurde überraschenderweise gefunden, dass der Einsatz des erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidationssystems sich sehr gut zur Behandlung der oben genannten Abwässer eignet und z.T. Performancevorteile gegenüber Oxidoreduktasesystemen besitzt.

Auch hier ist der Zusatz der oben genannten speziellen Verbindungen:

Polymerisationskatalysatoren vorgesehen.

Solche Stoffe können Phenole, Phenolderivate oder andere phenolische Polycyclen mit einer Reihe von oxidierbaren Hydroxylgruppen sein.

Solche Polymerisationskatalysatoren z.B. sind vorzugsweise solche wie in **WO98/59108** und **DE 101 26 988.9** beschrieben.

III) Einsatz des erfindungsgemäßen enzymatischen Oxidations- und/oder Bleichsystems bei der Herstellung von Ligninlösungen oder Gelen, von entsprechenden Bindern/Klebern und von Holzverbundstoffen

Die vorliegende Erfindung hat sich zum Ziel gesetzt, ein Verfahren zur enzymatischen Polymerisation und/oder Modifizierung von Lignin oder ligninenthaltenden Materialien zur Verfügung zu stellen, z.B. zum Einsatz zur Herstellung von Holzzusammensetzungen oder Holzverbundstoffen wie z.B. „fiber board“ aus zerfasertem Holz oder „particle board“ aus Holzspänen oder Holzstücken (--> Spanplatten, Sperrholz, Holzverbundstoff-Balken).

Aus der Literatur und Patentschriften wie z.B. WO 94/01488, WO 93/23477, WO 93/25622 und DE 3037992 C2 ist bekannt, dass Laccasen, Ligninperoxidasen oder Peroxidasen zu diesem Zweck eingesetzt wurden. Allerdings ist der Hauptnachteil die v.a. im Falle von Laccasen und Ligninperoxidasen vorhandene schwierige Herstellung dieser Enzyme und die geringen Ausbeuten auch bei gentechnisch veränderten Systemen.

Es wurde nun völlig überraschend gefunden, dass auch hier das erfindungsmäßige enzymatischen Oxidationssystem eine überlegene Performance zu den im Stand der Technik beschriebenen enzymatischen Systemen zur Polymerisation und/oder Modifizierung von Lignin und/oder ligninenthaltenden Materialien zeigt.

Dabei werden die erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidationssysteme mit Lignin (z.B. Lignosulfonaten und/oder uneingedampfter oder eingedampfter Sulfitablauge und/oder Sulfatlignin --> „Kraftlignin“, z.B. Indulin) und/oder ligninenthaltendem Material zusammengebracht.

Das Lignin und/oder das ligninenthaltende Material kann entweder bei höheren pH-Werten vorinkubiert werden, d.h. bei pH-Werten über pH 8, bevorzugt bei pH- Werten zwischen 9.5 bis 10.5 bei 20 bis 100 °C (vorzugsweise bei 60 bis 100 °C) und daraufhin der pH-Wert unter pH 7 verschoben werden, je nach optimalem Wirk-pH-Bereich des enzymatischen Oxidationssystems oder bei alkalischem Wirkoptimum des enzymatischen Oxidationssystems kann die Zusammengabe des Systems und Lignin und/oder ligninenthaltendem Material sofort ohne Vorbehandlung erfolgen. Die Vorbehandlung oder die Behandlung bei alkalischem pH hat den Zweck die wesentlich leichteren Löslichkeit des Lignins bei diesen höheren pH-Werten auszunützen, was für den erfindungsgemäßen Einsatz von großem Vorteil ist, da dann ohne organische Lösungsmittel gearbeitet werden kann ..

Die beschriebene Zusammengabe von enzymatischen Oxidationssystem und Lignin und/oder ligninenthaltendem Material dient also hauptsächlich dem Zweck, durch Oxidation eine Aktivierung der Substrate (Polyphenylpropane) herbeizuführen, d.h. durch radikalische Polymerisierung (Modifizierung) das Lignin und/oder das ligninenthaltende Material in ein aktiviertes und aktives Bindemittel zu überführen, welches dann, zusammengebracht mit zu verbindenden (zu verklebenden) Holzfasern und/oder Holzteilen unter Einwirkung von Druck und erhöhter Temperatur zu festen Holzverbundteilen wie die oben genannten Holzwerkstoffe, z.B. „fiber boards“ oder „particle boards“ aushärten kann.

Der Hauptvorteil liegt in der Verringerung oder Einsparung von normalerweise z.B. bei der Spanplattenherstellung zur „Verleimung“ verwendeten Harnstoff-Formaldehyd-harzen, die neben toxikologischer Bedenken auch nur bedingt feuchtigkeitsbeständig sind oder Phenol-formaldehydharzen, die ein ungünstiges Quellverhalten und lange Presszeiten (auch wiederum neben der toxikologischen Frage) zeigen.

Durch Zusatz von bestimmten chemischen Polymerisationskatalysatoren wie z.B. Polydiphenylmethyldiisocyanat (PMDI) und anderen, auch bei der Polymerisation von Lignin in ligninhaltigen Abwässern Verwendung findende Polymerisationskatalysatoren, kann die polymerisierende und/oder modifizierende Wirkung des enzymatischen Oxidationssystems weiter verstärkt werden. Solche Stoffe können Phenole, Phenolderivate oder andere phenolische Polycyclen mit einer Reihe von oxidierbaren Hydroxylgruppen sein, die bereits oben aufgeführt wurden (Abwasserbehandlung).

IV) Einsatz des erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidations- und/oder Bleichsystems als enzymatisches Deinking-System

Unter Deinken, wie es heute noch durchweg als Flotationsdeinken konventionell betrieben wird, versteht man im Prinzip ein zweistufiges Verfahren.

Ziel ist die Entfernung von Druckerschwärze und anderen Farbpartikeln aus Altpapier, wobei als Altpapier meistens die sogenannte „Haushaltssammelware“, die hauptsächlich aus Zeitungen und Illustrierten besteht, zum Einsatz kommt.

Die erste Behandlungsstufe dient v.a. zur mechanisch/chemischen Entfernung der an den Papierfasern haftenden Farbpartikel. Dies geschieht durch „Zurückführen“ des Papiers in einen einheitlichen Faserbrei, d.h. durch Aufschlagen (Zerkleinern) des Altpapiers in sogenannten Pulpn, Trommeln o.ä. unter gleichzeitiger Zugabe von ablöseverstärkenden und vergilbungsverhindernden und damit auch bleichenden Chemikalien wie Natronlauge, Fettsäure, Wasserglas und Wasserstoffperoxid (H_2O_2).

Dabei dient die Fettsäure als sogenannter Sammler der Farbpartikel, in der zweiten Behandlungsstufe, der Flotation, auch als Schaumerzeuger.

Die Flotation wird nach dem Aufschlagen des Altpapiers und einer bestimmten Einwirkzeit der genannten Chemikalien durch Einblasen von Luft in spezielle Flotationsbehältnisse vorgenommen. Dabei lagern sich die Farbpartikel an die Schaumblasen an und werden mit diesen ausgetragen, d.h. die Farbe wird von den Papierfasern getrennt.

Heute bevorzugt man eine „Fahrweise“ in neutralerem pH-Milieu, was den Einsatz von bestimmten Detergentien anstelle der Fettsäure nötig macht.

Aus der Literatur (WO 91/ 14820, WO 92 20857) ist der Einsatz eines Oxidoreduktase-, bzw. Laccase- Systems bekannt, das sich v.a. durch den Zusatz von speziellen Substanzen auszeichnet, die zum einen hauptsächlich das pH-Wirkoptimum der Laccase von *Trametes versicolor*, welches normalerweise im pH-Bereich von ca. pH 4-5 liegt, in den schwach alkalischen Bereich (pH 8 bis 8.7) verschieben, was für den Einsatz als Deinksystem wegen der unter pH 7 auftretenden $CaSO_4$ -Problematik dringend vorgegeben ist, und zum anderen die Laccasewirkung nicht in eine polymerisierende oder rein depolymerisierende Wirkungsweise „hin optimieren“, sondern nur eine gewisse Quellung der Fasern verursachen.

Diese ist aber (wie auch eine der Hauptwirkungen der Natronlauge in den rein chemischen Deinksystemen) als Ablösemechanismus für die Farbpartikel ein Hauptperformancemerkmal.

Als einziger weiterer Zusatz zu diesem enzymatischen System mit Oxidoreduktasen sind Detergentien zur Schaumerzeugung nötig.

Nahezu alle in Frage kommenden Detergentien haben auch farbablösende Wirkung.

Daneben bewirkt in konventionellen Deinksystemen der Einsatz von Natronlauge und Peroxid Weißsteigerungen durch die Bleichwirkung dieser Chemikalien. Diese Bleichwirkung ist mit dem genannten Enzymsystem nach Stand der Technik systembedingt nicht erreichbar.

Es wurde nun völlig überraschenderweise gefunden, dass das erfindungsmäßige enzymatische Oxidationssystem durch eine geeignete Auswahl der Bedingungen die Effizienz der anderen enzymatischen Deinksysteme bei ligninhaltigem Deinkstoff übertreffen und v.a. den Vorteil der Bleichwirkung der rein chemischen Systeme zumindest z.T. kompensiert wird.

Dabei kann auch die oben erwähnte Zugabe der speziellen **Polymerisationskatalysatoren**, d.h. Substanzen, meistens phenolischer Natur und insbesondere mit mehreren Hydroxylgruppen, die auch bei der enzymatischen Abwasserbehandlung und generellen Polymerisationsreaktionen wie bei der Erzeugung von Binder/Kleber aus Lignin oder ligninenthaltenden Stoffen v.a. zur Herstellung von Holzverbundstoffen als polymerisationssteigernde Zusatzstoffe Verwendung finden können, eine weitere Verbesserung der Druckfarbablösung bewirken.

V) Einsatz des erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidations- und/oder Bleichsystems als Oxidationssystem in der organischen Synthese

In den letzten Jahren wurden verstärkt Enzyme auch für chemische Umsetzungen in der organischen Synthese verwendet.

In: Preperative Biotransformations, (Whole Cell and Isolated Enzymes in Organic Synthesis, S.M. Roberts; K. Wiggins; G.Casy, J.Wiley & Sons Ltd. 1992/93;
Organic Synthesis With Oxidative Enzymes, H.L. Holland; VCH, 1992;
Biotransformation in Organic Chemistry, K.Faber; Springer Verlag, 1992

sind einige Beispiele zusammengestellt, die eine Auswahl von oxidativen Reaktionen zeigen, die mit enzymatischen Systemen durchgeführt werden können:

1) Hydroxylierungsreaktionen

- a) Synthese von Alkoholen
- b) Hydroxylierung von Steroiden
- c) Hydroxylierung von Terpenen
- d) Hydroxylierung von Benzolen
- e) Hydroxylierung von Alkanen
- f) Hydroxylierung von aromatischen Verbindungen
- g) Hydroxylierung von Doppelbindungen
- h) Hydroxylierung von unaktivierten Methylgruppen
- i) Dihydroxylierung von aromatischen Verbindungen

2) Oxidation von ungesättigten Aliphaten

- a) Herstellung von Epoxiden
- b) Herstellung von Verbindungen über Epoxierung
- c) Herstellung von Arenoxiden
- d) Herstellung von Phenolen
- e) Herstellung von *cis* Dihydrodiolen

3) Baeyer-Villiger Oxidationen

- a) Baeyer-Villiger Conversion von Steroiden

4) Oxidation von Heterocyclen

- a) Transformation von organischen Sulfiden
- b) Oxidation von Schwefelverbindungen
- c) Oxidation von Stickstoffverbindungen (Bildung von N-Oxiden etc.)
- d) Oxidation von anderen Heteroatomen

5) Kohlenstoff-Kohlenstoff Dehydrogenierungen

- a) Dehydrogenierung von Steroiden

6) Andere Oxidationsreaktionen

- a) Oxidation von Alkoholen und Aldehyden
- b) Oxidation von aromatischen Methylgruppen zu Aldehyden

- c) Oxidative Kupplung von Phenolen
- d) Oxidativer Abbau von Alkylketten (β -Oxidation etc.)
- e) Bildung von Peroxiden oder Perverbindungen
- f) Initiierung von Radikalkettenreaktionen

Auch hier wurde völlig überraschenderweise gefunden, dass man mit Hilfe des erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidationssystems eine Vielzahl von Oxidationsreaktionen aus der oben gezeigten beispielhaften Aufzählung ausführen kann.

VI) Einsatz des erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidations- und/oder Bleichsystems als Bleichmittel in Waschmitteln

Insbesondere im Niedertemperaturbereich sind die herkömmlichen Bleichsysteme in Haushaltswaschmitteln unbefriedigend. Unterhalb von 60 °C Wascht Temperatur muss das Standardbleichmittel H_2O_2 /Natriumperborat/ Natriumpercarbonat durch Zusatz von chemischen Bleichaktivatoren wie TAED und SNOBS aktiviert werden. Ferner wird nach besser biologisch abbaubaren, biokompatiblen und niedrig dosierbaren Bleichsystemen für die Niedrigtemperatur wäsche gesucht. Während für Eiweiß-, Stärke- und Fettlösung sowie für die Faserbehandlung im Waschvorgang bereits Enzyme im technischen Einsatz sind, steht für die Waschmittelbleiche bisher kein enzymatisches Prinzip zur Verfügung.

In der WO 1/05839 wird der Einsatz verschiedener oxidativ wirkender Enzyme (Oxidasen und Peroxidasen) zur Verhinderung des „Dye Transfers“ beschrieben. Peroxidasen sind bekanntermaßen in der Lage, verschiedene Pigmente (3-Hydroxyflavon and Betain durch Meerrettichperoxidase, Carotin durch Peroxidase) zu „entfärben“.

Die genannte Patentanmeldung beschreibt die Entfärbung (auch „bleaching“ genannt) von aus der Wäsche abgelösten, in der Flotte vorliegenden Textilfarbstoffen (Umwandlung eines gefärbten Substrates in einen ungefärbten, oxidierten Stoff). Dabei soll das Enzym gegenüber z.B. Hypochlorit, das auch den Farbstoff auf oder in dem Gewebe angreift, den Vorteil haben, nur gelöst vorliegenden Farbstoff zu entfärben, wobei Wasserstoffperoxid oder eine entsprechende Vorstufe oder in situ generiertes Wasserstoffperoxid an der Katalyse der Entfärbung beteiligt sind. Die Enzymreaktion kann teilweise durch Zugabe von zusätzlichem oxidierbaren Enzymsubstrat, z.B. Metallionen wie Mn^{++} , Halogenidionen wie Cl^- oder Br^- oder organischen Phenolen, wie p-Hydroxycimtsäure und 3,4- Dichlorphenol gesteigert werden.

Hierbei wird die Bildung von kurzlebigen Radikalen oder von anderen oxidierten Zuständen des zugesetzten Substrats postuliert, die für die Bleiche oder eine andere Modifikation der gefärbten Substanz verantwortlich sind.

In der US 4 077 6768 wird die Verwendung von „iron porphin“, „haemin chlorid“ oder „iron phthalocyanine“ oder Derivaten zusammen mit Wasserstoffperoxid zur Verhinderung des „Dye Transfers“ beschrieben. Diese Stoffe werden aber bei einem Überschuss an Peroxid schnell zerstört, weshalb die Wasserstoffperoxid-Bildung kontrolliert ablaufen muss.

Aus WO/126119, WO 94/12620 und WO 94/12621 sind Verfahren bekannt, bei welchen die Aktivität der Peroxidase mittels sogenannter Enhancer-Substanzen gefördert wird. Solche Enhancer-Substanzen werden in WO 94/12620 anhand ihrer Halbwertslebensdauer charakterisiert.

Gemäß WO 94/12621 sind Enhancer-Substanzen durch die Formel $A=N-N=B$ gekennzeichnet, wobei A und B jeweils definierte cyclische Reste sind.

Gemäß WO 94/12620 sind Enhancer-Substanzen organische Chemikalien, die mindestens zwei aromatische Ringe enthalten, von denen zumindestens einer mit jeweils definierten Resten substituiert ist.

Alle drei Anmeldungen betreffen „dye transfer inhibition“ und den Einsatz der jeweiligen Enhancer-Substanzen zusammen mit Peroxidasen als Detergenz-Additiv oder Detergenz-Zusammensetzung im Waschmittelbereich. Die Kombination dieser Enhancer-Substanzen ist auf Peroxidasen beschränkt.

Auch aus der WO 92/18687 ist der Einsatz von Gemischen enthaltend Peroxidasen bekannt. Die WO 94/ 29425, DE 4445088.5 und WO 97/ 48786 beinhalten schließlich Mehrkomponentenbleichsysteme zur Verwendung mit waschaktiven Substanzen bestehend aus: Oxdationskatalysatoren und Oxdationsmitteln sowie aliphatischen, cycloaliphatischen, heterocyclischen oder aromatischen NO-, NOH- oder H-NR-OH-haltigen Verbindungen.

Nachteilig bei allen bisher bekannten „enzymatisch verstärkten“ Waschmittel-Bleich-Systemen ist, dass die Reinigungs- und Bleichwirkung immer noch nicht zufriedenstellend ist bzw. die Mediatorsubstanzen in zu großer Menge zugegeben werden müssen und somit umweltmäßig und ökonomisch Probleme auftreten können.

Es wurde nun völlig überraschend gefunden, dass das erfindungsmäßige enzymatische Oxidationssysteme die Performance der oben genannten Systeme übertreffen und die erwähnten Nachteile des Standes der Technik nicht aufweisen.

VII) Einsatz des erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidations- und/oder Bleichsystems bei der Bleiche und/oder Entfärbung von Textilgeweben

Enzyme werden heute in steigenden Mengen und für verschiedene Applikationen in der Textilindustrie eingesetzt.

Zum Beispiel spielt der Einsatz von Amylasen beim „Desizing Prozeß“ eine große Rolle, wodurch der Einsatz von starken Säuren, Laugen oder Oxidationsmitteln verhindert werden kann.

Ebenso werden Cellulasen für das sogenannte Bio-polishing wie auch beim sogenannten Bio-stoning eingesetzt, einem Verfahren, das meistens zusammen mit dem konventionellen Prozess des Stone-washings mit Bimssteinen beim Behandeln von Denim-Jeansstoffen zur Entfernung des Indigofarbstoffes Anwendung findet.

WO 94/29510, WO/ 96/18770, DE 196 12 194 A1 und DE 44 45 088 A1 beschreiben Verfahren zur enzymatischen Delignifizierung, bei dem Enzyme zusammen mit Mediatoren eingesetzt werden. Als Mediatoren werden allgemein Verbindungen mit der Struktur NO-, NOH-, oder HRNOH offenbart.

Allerdings sind diese Systeme auf den Einsatz in der Zellstoffbleiche beschränkt. Da die Mechanismen, die einer ligninentfernenden Zellstoffbleiche, und um einen solchen Vorgang handelt es sich hier, zu Grunde liegen, völlig verschieden zu einer Entfärbung, Entfernung und/oder „Zerstörung“ von Denimfarbstoffen im Jeansbereich wie v.a. Indigofarbstoffe etc. sind, war es überraschend, dass eine Reihe von Stoffen des genannten NO-,NOH-, HNROH-typs auch für diesen Anwendungszweck geeignet ist. In WO 97/06244 sind Systeme für die Bleiche von Zellstoff, der „dye transfer inhibition“ und der Bleiche von Flecken bei der Waschmittelanwendung, die mit Enzymen (Peroxi-dasen, Laccasen) und enzymverstärkenden (hetero)-aromatischen Verbindungen wie Nitrosoverbindungen etc. arbeiten, beschrieben. Allerdings ist hier ebenso wie in den Patenten WO 94/12619, WO 94/12620 und WO 94/12621 nur der oben beschriebene Einsatz vorgesehen.

Auch die Mechanismen der Entfärbung von Flecken bei der Waschmittelbleiche bzw. „dye transfer inhibition“ sind völlig andere als die, die bei der Entfärbung, Entfernung und/oder „Zerstörung“ von Indigo-Farbstoffen, z.B. bei der Denimbehandlung zu Grunde liegen.

Aus den genannten WO 94/12619, WO 94/12620 und WO 94/12621 sind Verfahren bekannt, bei welchen die Aktivität der Peroxidase mittels sogenannter Enhancer-Substanzen gefördert werden. Solche Enhancer-Substanzen werden in WO 94/12620 anhand ihrer Halbwertslebensdauer charakterisiert. Gemäß WO 94/12621 sind Enhancer-Substanzen durch die Formel $A=N-N=B$ gekennzeichnet, wobei A und B jeweils definierte cyclische Reste sind. Gemäß WO 94/12621 sind Enhancer-Substanzen organische Chemikalien, die mindestens zwei aromatische Ringe enthalten, von denen zumindestens einer mit jeweils definierten Resten substituiert ist.

Alle drei Anmeldungen betreffen (wie bereits erwähnt) „dye transfer inhibition“ und den Einsatz der jeweiligen Enhancer-Substanzen zusammen mit Peroxidasen als Detergenz-Additiv oder Detergenz-Zusammensetzung im Waschmittelbereich bzw. auch Zellstoff-bleichbereich. Die Kombination dieser Enhancer-Substanzen ist auf Peroxidasen beschränkt.

Weiterhin werden neuerdings Oxidoreduktasen, hauptsächlich Laccasen, aber auch Peroxidasen zur Behandlung von hauptsächlich Jeans Denim eingesetzt.

Aus der Patentanmeldung WO 96/ 12846 ist bekannt, daß Laccase bzw. auch Peroxidase + bestimmte Enhancersubstanzen, v.a. Phenothiazin- bzw. Phenoxazin- Abkömmlinge, für zwei Applikationsformen bei der Behandlung von celluloseenthaltenden Geweben wie Baumwolle, Viskose, Rayon, (Kunstseide) Ramie, Leinen, Tencelm, Seide oder Mischungen dieser Gewebe oder Mischungen dieser Gewebe mit Synthefasern wie z.B. Mischungen von Baumwolle und Spandex (Stretch-Denim) , hauptsächlich aber Denimstoffen (hauptsächlich Jeansware) eingesetzt werden:

Zum einen soll das System (Oxidoreduktasen + Enhancersubstanzen) zur Bleiche von Denim anstatt der üblichen Hypochloritbleiche, üblich nach Stone-washing-Vorbehandlung, eingesetzt werden, wobei diese enzymatische Behandlung nur zu einem teilweisen Ersatz von Hypochlorit führt, da das gewünschte Bleichergebnis nicht erreicht werden kann.

Zum anderen kann das System zusammen mit Cellulase beim Stone-washing anstelle der üblichen mechanischen Behandlung durch Bimssteine eingesetzt werden, was die Performance von „Nur-Cellulase-Behandlung“ verbessern soll.

Die Hauptnachteile des in WO/ 96/12846 beschriebenen Systems sind unter anderem folgende:

- 1) Es muss Laccase in erheblichen Mengen eingesetzt werden (ca. 10 IU/ g Denim), um das gewünschte Ergebnis zu erzielen.
- 2) Die optimale Behandlungsdauer ist z.T. 2-3 Stunden.
- 3) Der bevorzugte Mediator (hier Phenothiazin-10-propionsäure) muß in ca. 2 bis ca. 14 mg pro g Denim eingesetzt werden, was erhebliche Kosten verursacht.
- 4) Es muss in Puffersystemen (ca. 0.1 Mol/L) gearbeitet werden, da ansonsten keine Performance erreicht werden kann, was das System ebenso erheblich verteuert. Dies ist z.B. bei den erfindungsgemäßen Systemen nicht nötig.
- 5) Durch die Färbung der Enhancerkomponente (langlebiges Radikal) wird eine „Verbräunung“ des Gewebes hervorgerufen.

Der generelle Hauptvorteil eines Laccase- und/ oder Oxidoreduktasesystems mit enzymwirkungsverstärkenden Verbindungen (Enhancern, Mediatoren etc.) beim Einsatz in der oben beschriebenen Behandlung von Textilien (z.B. Jeansstoffe) liegt auch darin, dass man Fashion looks erzielen kann, die eine übliche Hypochlorit-Bleiche nicht ermöglicht.

Die normalerweise bei Jeans-Denim benutzten Farbstoffe sind VAT Farbstoffe, wie Indigo oder Indigoabkömmlinge, wie z.B. Thioindigo, aber auch sogenannte Sulfur dyes.

Durch den Einsatz solcher spezieller enzymatischer Systeme ist es möglich (durch die hohe Spezifität solcher Systeme) bei Mischfarbensystemen wie z.B. Indigo- und Sulfur dye, nur den Indigofarbstoff zu entfärben, während der Sulfur dye nicht oxidiert wird. Dies führt in Abhängigkeit von der benutzten enzymwirkungsverstärkenden Verbindung

zu nahezu jeder gewünschten Färbung des Gewebes (z.B. Grautöne etc.), die oftmals erwünscht ist.

Als zusätzlicher Vorteil ist zu sehen, dass die enzymatische Behandlung wesentlich schonender abläuft als die Bleiche mit Hypochlorit, was zu geringeren Faserschädigungen führt.

Beim Stone-wash-Prozess ist v.a. der ökologische Effekt von Bedeutung (auch neben der geringeren Faserschädigung durch die Enzyme), wenn man z.B. bedenkt, dass pro kg Jeans-Denim ca. 1 kg Steinschlamm durch diesen rein mechanischen Prozeß entsteht. Wie im Stand der Technik dargelegt, besteht in der Textilindustrie, hauptsächlich bei gefärbten Geweben (wie. z. B. Jeans-Denim) ein großer Bedarf an alternativen Bleichverfahren (zur konventionellen Hypochloritbleiche) und/oder Behandlungsverfahren als Alternative zum Stone-washing zur Erzielung des sogenannten „bleached looks“, nicht zuletzt wegen der auch hier bestehenden Umweltproblematik.

Die vorliegende Erfindung hat sich nun zum Ziel gesetzt, die Nachteile der konventionellen Prozesse: Stone- washing / Bleiche nach Stone-washing oder generelle Bleiche von gefärbten und/oder ungefärbten Textilgeweben:

V.a. Umweltproblematik und Faserschädigungen und auch die Nachteile der bekannten Oxidoreduktase/Enhancer-Systeme (z.B. NO-Radikalbildungen etc.) und auch die der Lipase verstärkten Oxidationssysteme zu minimieren bzw. zu beheben.

Es wurde nun völlig überraschend gefunden, dass das erfindungsmäßige enzymatische Oxidationssystem die Performance der oben genannten Oxidoreduktase-Mediator-Systeme übertrifft und die erwähnten Nachteile des Standes der Technik nicht aufweist.

Genauere Beschreibung des erfindungsmäßigen enzymatischen Oxidations und/oder Bleichsystems in Bezug auf die verschiedenen Anwendungen:

I) Einsatz in der Zellstoffbleiche

Die Wirksamkeit des erfindungsmäßigen Oxidations- und Bleichsystems beim Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen ist häufig

nochmals gesteigert, wenn neben den genannten Bestandteilen noch Mg^{2+} Ionen vorhanden sind. Die Mg^{2+} Ionen können beispielsweise als Salz, wie z.B. $MgSO_4$, eingesetzt werden. Die Konzentration liegt im Bereich von 0,1 - 2 mg/g ligninhaltigem Material, vorzugsweise bei 0,2 - 0,6 mg/g.

In manchen Fällen lässt sich eine weitere Steigerung dadurch erreichen, dass das System neben den Mg^{2+} Ionen auch Komplexbildner wie z.B. Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA), Hydroxyethylendiamintriessigsäure (HEDTA), Diethylentriaminpentamethylenphosphonsäure (DTMPA), Nitrilotriessigsäure (NTA), Polyphosphorsäure (PPA) etc. enthält. Die Konzentration liegt im Bereich von 0,2 - 5 mg/g ligninhaltigem Material, vorzugsweise bei 1 - 3 mg.

Überraschenderweise zeigte sich ferner, dass eine saure Wäsche (pH 2 bis 6, vorzugsweise 2 bis 5) oder Q-Stufe (pH-Wert 2 bis 6, vorzugsweise 2 bis 5) vor bzw. nach der Behandlung mit dem erfindungsmäßigen Oxidations- und Bleichverfahren bei manchen Zellstoffen zu einer erheblichen Kappazalerniedrigung im Vergleich zur Behandlung ohne diese spezielle Vor- bzw. Nachbehandlung führt. In der Q-Stufe werden als Chelatbildner die zu diesem Zwecke üblichen Substanzen (wie z.B. EDTA, DTPA) eingesetzt. Sie werden vorzugsweise in Konzentrationen von 0,1 %/ to bis 1 %/ to, besonders bevorzugt 0,1 %/ to bis 0,5 %/ to eingesetzt.

Gleichzeitig können Reduktionsmittel zugegeben werden, die zusammen mit den vorhandenen Oxidationsmitteln zur Einstellung eines bestimmten Redoxpotentials dienen.

Als Reduktionsmittel können Natrium-Bisulfit, Natrium-Dithionit, Ascorbinsäure, Thioverbindungen, Mercaptoverbindungen oder Glutathion etc. eingesetzt werden.

Außerdem können dem System zusätzlich Radikalbildner oder Radikalfänger (Abfangen von beispielsweise OH^\cdot oder OOH^\cdot Radikalen) zugesetzt werden. Diese können das Zusammenspiel innerhalb der Red/Ox- und Radikalmediatoren verbessern.

Der Reaktionslösung können auch weitere Metallsalze zugegeben werden.

Diese sind im Zusammenwirken mit Chelatbildnern als Radikalbildner oder Red/Ox-Zentren wichtig. Die Salze bilden in der Reaktionslösung Kationen. Solche Ionen sind u.a. Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mn^{3+} , Mn^{4+} , Cu^{1+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Ti^{3+} , Ce^{4+} , Al^{3+} .

Die in der Lösung vorhandenen Chelate können darüber hinaus als Mimicsubstanzen für bestimmte Oxidoreduktasen wie die Laccasen (Kupferkomplexe) oder für die Lignin- oder Manganperoxidasen (Hämkomplexe) dienen. Unter Mimicsubstanzen sind solche Stoffe zu verstehen, die die prosthetischen Gruppen von (hier) Oxidoreduktasen simulieren und z.B. Oxidationsreaktionen katalysieren können.

Schließlich ist es auch möglich, unter Einsatz von Detergentien zu arbeiten. Als solche kommen nicht-ionische, anionische, kationische und amphotere Tenside in Betracht. Die Detergentien können die Penetration der Enzyme und der anderen Komponenten in die Faser verbessern.

Benso kann es für die Reaktion förderlich sein, Polysaccharide und/oder Proteine zuzusetzen. Hier sind insbesondere als Polysaccharide Glucane, Mannane, Dextrane, Lävane, Pektine, Alginate oder Pflanzengummis und als Proteine Gelantine und Albumin zu nennen. Diese Stoffe dienen hauptsächlich als Schutzkolloide für die Enzyme.

Weitere Proteine, die zugesetzt werden können, sind Proteasen wie Pepsin, Bromelin, Papain usw.. Diese können u.a. dazu dienen, durch den Abbau des im Holz vorhandenen Extensins (hydroxyprolinreiches Protein) einen besseren Zugang zum Lignin zu erreichen.

Als weitere Schutzkolloide kommen Aminosäuren, Einfachzucker, Oligomerzucker, PEG-Typen der verschiedensten Molekulargewichte, Polyethylenoxide, Polyethylenimine und polydimethylsiloxane in Frage.

Weiterhin können dem erfindungsmäßigen Oxidations- und Bleichsystem Stoffe zugesetzt werden, die die Hydrophobizität des Reaktionsmilieus verstärken und somit quellend auf das Lignin in den Fasern wirken und somit dessen Angreifbarkeit erhöhen.

Solche Stoffe sind z.B. **Glycole** wie: Propylenglycol, Ethylenglycol, **Glycolether** wie: Propylenglycoldimethylether etc. aber auch Lösungsmittel wie z.B. **Alkohole** wie: Methanol, Ethanol, Butanol, Amyl-alkohol, Cyclohexanol, Benzylalkohol, Chlorhydrin, **Phenole** wie: Phenol, Methyl- und Methoxyphenole, **Aldehyde** wie: Formaldehyd, Chloral, **Thioether** wie: Buthylmercaptan, Benzylmercaptan, Thioglycolsäure, **Organische Säuren** wie: Ameisensäure, Essigsäure, Chloressigsäure, **Amine** wie Ammoniak, Hydrazin, **Hydrotope Lösungsmittel** wie: z.B. konz. Lösungen von Natriumbenzoat, **Sonstige** wie:

Benzole, Pyridine, Dioxan, Acetessigsäureethylester, andere basische Lösungsmittel wie $\text{OH}^-/\text{H}_2\text{O}$, bzw. $\text{OH}^-/\text{Alkohole}$ u.a..

Das erfindungsgemäße Verfahren kann nicht nur bei der Delignifizierung (Bleiche) von Sulfat-, Sulfit-, Organosolv-, o.a. Zellstoffen und von Holzstoffen eingesetzt werden, sondern auch bei der Herstellung von Zellstoffen allgemein, sei es aus Holz- oder Einjahrespflanzen, wenn eine Defibrillierung durch die üblichen Kochverfahren (verbunden eventuell mit mechanischen Verfahren oder Druck), d.h. eine sehr schonende Kochung bis zu Kappazahlen, die im Bereich von ca. 50 - 120 Kappa liegen können, gewährleistet ist.

Bei der Bleiche von Zellstoffen wie auch bei der Herstellung von Zellstoffen kann die Behandlung mit dem erfindungsmäßigen Oxidations und Bleichsystem einmalig erfolgen oder mehr-fach wiederholt werden, entweder vor und/oder nach Wäsche und Extraktion des behandelten Stoffes mit NaOH etc. oder ohne diese Zwischenschritte aber auch vor und/oder nach Vor- und/oder Nachbehandlungsschritten wie saurer Wäsche, sauren Behandlungen zur Entfernung von Hexenuronsäuren, Q-Stufen, alkalisches leaching, Bleichstufen: wie Peroxidbleichen, O_2 - verstärkte Peroxidstufen, Druckperoxidstufen, O_2 -Delignifizierung, Cl_2 -Bleiche, ClO_2 -Bleiche, Cl_2/ClO_2 -Bleiche, Persäurebleichstufen, Persäure-verstärkte O_2 -Bleiche/Peroxidbleiche, Ozonbleiche, Dioxiranbleiche, reduktive Bleichstufen, andere Behandlungen wie: Quellstufen, Sulfonierungen, NO/NO_2 -Behandlungen, Nitrosylschwefelsäurebehandlung, Enzymbehandlungen wie z.B. Behandlungen mit Hydrolasen wie Cellulasen und/oder Hemicellulasen (z.B. Xylanase, Mannanase etc.) und/oder Amylasen und/oder Pektinasen und/oder Proteinasen und/oder Lipasen und/oder Amidasen und/oder Oxidoreduktasen wie z.B. Laccasen und/oder Peroxidasen etc. bzw. mehreren kombinierten Behandlungen erfolgen.

Dies führt zu noch wesentlich weiter reduzierbaren Kappawerten und zu erheblichen Weißesteigerungen. Ebenso kann vor der Behandlung mit den erfindungsmäßigen Oxidations- und Bleichsystemen eine O_2 -Stufe eingesetzt werden oder auch wie bereits erwähnt eine saure Wäsche, saure Behandlung oder Q-Stufe (Chelatstufe) ausgeführt werden.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Beispielen näher erläutert:

Beispiel 1

Enzymatische Bleiche mit Laccase/ Quadratsäure/Acetylaceton und Softwood (Sulfatzellstoff)

5 g atro Zellstoff (Softwood O₂ delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 0.1 kg Quadratsäure und 1 kg Acetylaceton pro to Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H₂SO₄-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 4,5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit der Menge **Laccase** von *Trametes versicolor* versetzt, daß eine Aktivität von 2 U* pro g Zellstoff resultiert.

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigknetter gemixt.

Danach wird der Stoff bei 45°C für 1 - 4 Stunden im Schüttelwasserbad unter leichtem Schütteln inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 70°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

Beispiel 2

Enzymatische Bleiche mit Laccase/ 4-tert.-Butylurazol /Acetylaceton und Softwood (Sulfatzellstoff)

5 g atro Zellstoff (Softwood O₂ delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 2 kg 4-tert.-Butylurazol und 1 kg Acetylaceton pro to Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H₂SO₄-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 4,5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit der Menge **Laccase** von *Trametes versicolor* versetzt, daß eine Aktivität von 2 U* pro g Zellstoff resultiert.

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.
Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneteter gemixt.
Danach wird der Stoff bei 45°C für 1 - 4 Stunden im Schüttelwasserbad unter leichtem Schütteln inkubiert.
Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 70°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.
Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

Beispiel 3

Enzymatische Bleiche mit Laccase/ Adipinsäure-Dihydrazid /Acetylaceton und Softwood (Sulfatzellstoff)

5 g atro Zellstoff (Softwood O₂ delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 2 kg Adipinsäure-Dihydrazid und 1 kg Acetylaceton pro to Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H₂SO₄-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 4,5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit der Menge **Laccase** von *Trametes versicolor* versetzt, daß eine Aktivität von 2 U* pro g Zellstoff resultiert.

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.
Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneteter gemixt.
Danach wird der Stoff bei 45°C für 1 - 4 Stunden im Schüttelwasserbad unter leichtem Schütteln inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 70°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.
Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

Beispiel 4**Enzymatische Bleiche mit Laccase/ Hydantoyl-essigsäure/Acetylaceton und Softwood (Sulfatzellstoff)**

5 g atro Zellstoff (Softwood O₂ delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 2 kg Hydantoyl-essigsäure und 1 kg Acetylaceton pro to Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H₂SO₄-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 4,5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit der Menge **Laccase** von Trametes versicolor versetzt, daß eine Aktivität von 2 U* pro g Zellstoff resultiert.

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigknetter gemixt.

Danach wird der Stoff bei 45°C für 1 - 4 Stunden im Schüttelwasserbad unter leichtem Schütteln inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nygonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 70°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

*** 1U = Umsatz von 1µMol Syringaldazin /min / mg Enzymtrockensubstanz**

Beispiel 5**Enzymatische Bleiche mit HRP/Dicyandiamid /Acetylaceton und Softwood (Sulfatzellstoff)**

5 g atro Zellstoff (Softwood O₂ delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 2 kg Dicyandiamid und 1 kg Acetylaceton pro to Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H₂SO₄-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 4,5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit 0.1 mg **HRP** pro g Zellstoff versetzt.

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneteter gemixt.

Danach wird der Stoff bei 45°C für 1 - 4 Stunden im Schüttelwasserbad unter leichtem Schütteln inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 70°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

Beispiel 6

Enzymatische Bleiche mit Laccase/ Ethylcarbazat und Softwood (Sulfatzellstoff)

5 g atro Zellstoff (Softwood O₂ delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 3 kg Ethylcarbazate und 1 kg Acetylaceton pro to Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H₂SO₄-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 4,5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit der Menge **Laccase** von Trametes versicolor versetzt, daß eine Aktivität von 2 U* pro g Zellstoff resultiert.

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneteter gemixt.

Danach wird der Stoff bei 45°C für 1 - 4 Stunden im Schüttelwasserbad unter leichtem Schütteln inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 70°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

*** 1U = Umsatz von 1µMol Syringaldazin /min / mg Enzymtrockensubstanz**

Patentansprüche

1. Verfahren zur Oxidation und/oder Bleiche, dadurch gekennzeichnet ist, dass
 - a) Oxidoreduktasen wie Laccasen und/oder Peroxidasen –einzeln oder in Kombination- in Gegenwart ihrer jeweiligen Co-Substrate O_2 , H_2O_2 , organische Peroxide, Persäuren u.a. eingesetzt werden zur Aktivierung von Verbindungen aus der Klasse der Oxokohlenstoffe, aus der Klasse der Urazole und Hydrazide, aus der Klasse der Hydantoine, und der Klasse der Nitril (Cyan)- Verbindungen und dass
 - b) zusätzlich Carbonylverbindungen (Ketone, Aldehyde) eingesetzt werden, die mit den aktivierten Verbindungen aktive Sauerstoffspezies wie Dioxirane, Dioxetane, Peroxyverbindungen u.a. oder andere reaktive Verbindungen oder Übergangsstufen wie Radikale, Kationradikale, Anionradikale oder reaktive (redox-aktive) Neutralverbindungen bilden können.
2. Oxidations-und/oder Bleichsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als zu aktivierende Verbindungen solche aus der Gruppe der Oxokohlenstoffe wie α -Hydroxy-carbonylverbindungen, α -Dicarbonylverbindungen, β -Hydroxycarbonylverbindungen und β -Dicarbonylverbindungen, offenkettige Verbindungen mit Doppelbindung (Enole) und Verbindungen aus der Gruppe der cyclische Oxokohlenstoffe wie Dreiecksäure, Quadratsäure, Krokonsäure, Rhodizonsäure und Tetrahydroxy-p-hydrochinon und deren Salze und Derivate eingesetzt werden.
3. Oxidations-und/oder Bleichsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als zu aktivierende Verbindungen solche aus der Gruppe der Amide wie Hydrazide, cyclische Hydrazide, Urazole und Phthalhydrazide eingesetzt werden.
4. Oxidations-und/oder Bleichsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als zu aktivierende Verbindungen solche aus der Gruppe der Imide wie der Hydantoine, cyclischen Imide und Hydantoinderivate eingesetzt werden.

5. Oxidations- und/oder Bleichsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als zu aktivierende Verbindungen solche aus der Gruppe der Nitril-(Cyan) Verbindungen wie Cyanamid oder Dicyandiamid eingesetzt werden.
6. Oxidations- und/oder Bleichsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich Carbonylverbindungen insbesondere nichtcyclische Verbindungen eingesetzt werden.
7. Bleichsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Oxidoreduktasen der Klassen 1.1.1. bis 1.97 eingesetzt werden.
8. Oxidations- und/oder Bleichsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als Oxidoreduktasen Laccasen und Peroxidasen eingesetzt werden.
9. Oxidations- und/oder Bleichsysteme nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als zusätzliche Systeme enzymatische Oxidationssysteme gleichzeitig zugesetzt werden können oder zeitlich in jeder beliebigen Reihenfolge eingesetzt werden können wie:
HOS-System, Peroxynitrit-System, Ferrocen/Peroxid-System, Organosulfonsäure/
Peroxid/Keton-System, aktiviertes Sulfit/Superoxid/Keton-System und Oxidoreduktase
Mediator-System.
10. Oxidations- und/oder Bleichsysteme nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als Co-substrate bevorzugt Luft, Sauerstoff, Peroxidverbindungen wie:
 H_2O_2 , organische Peroxide, Persäuren wie Peressigsäure, Perameisensäure, Perschwefelsäure, Persalpetersäure, Metachlorperoxidbenzoesäure, Perverbindungen wie: Perborate, Percarbonate, Persulfate oder Sauerstoffspezies und deren Radikale wie OH-Radikal, OOH-Radikal, OH^+ -Radikal, Superoxid (O_2^-), Singulett-Sauerstoff, eingesetzt werden.
11. Verwendung des Oxidations- und Bleichsystems nach Anspruch 1 bis 10 in einem Verfahren zur Delignifizierung und /oder Veränderung und/oder Bleiche von Zellstoffen aus Holz und Einjahrespflanzen und Holzstoffen und Deinkstoffen, wobei die Reaktion der Oxidations und Bleichsysteme in einem pH-Bereich von pH 3 bis 11, vorzugsweise pH 3 bis 9, bei einer Temperatur von 20 bis 95 °C, vorzugsweise 40 bis 95 °C, bei einer Stoffdichte von

0.5 bis 40%, bevorzugt 4 bis 15 % in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis leichtem O₂-Überdruck (bis 2 bar) durchgeführt wird und die Laccase-Konzentration, oder Peroxidase-Konzentration im Bereich von 2-500 g reines Enzym pro Tonne Zellstoff, die Konzentration der zu aktivierenden Verbindung von 1- 15 kg pro Tonne Zellstoff, H₂O₂ im Bereich von 0.2 bis 15 kg pro Tonne und die Carbonylverbindung im Bereich von 0.2 bis 5kg/Tonne Zellstoff liegen.

12. Verwendung des Oxidations- und/oder Bleichsystems nach Anspruch 1 bis 11 in einem Verfahren zur **Delignifizierung und /oder Veränderung und/oder Bleiche von Zellstoffen aus Holz und Einjahrespflanzen** und Holzstoffen und Deinkstoffen, wobei vor und/oder nach der Reaktion des Enzymsystems eine saure Wäsche oder Q-Stufe eingesetzt wird und daß die saure Wäsche bei 60-120 °C, bei pH 2 bis 5,5, für 30-90 min und 4-20% Stoffdichte durchgeführt wird und dass die Q-Stufe mit 0.05 - 1%, vorzugsweise 0.2 bis 0.5 % Chelatbildner, bei 60-100°C, bei pH 2 bis 5,5, für 30-90 min und 4-20% Stoffdichte durchgeführt wird.

13. Verwendung des Oxidations- und/oder Bleichsystems nach Anspruch 1 bis 12 in einem Verfahren zur **Delignifizierung und /oder Veränderung und/oder Bleiche von Zellstoffen aus Holz und Einjahrespflanzen** und Holzstoffen und Deinkstoffen, wobei für die saure Wäsche und die Q-Stufe 1 Std., 60 - 90°C, pH 2 bis 5 und 10% Stoffdichte eingehalten werden.

14. Verwendung des Oxidations- und Bleichsystems nach Anspruch 1 bis 13 in einem Verfahren zur **Delignifizierung und /oder Veränderung und/oder Bleiche von Zellstoffen aus Holz und Einjahrespflanzen** und Holzstoffen und Deinkstoffen, wobei es vor oder nach jeder möglichen Behandlung des Zellstoffes, sei es Kochverfahren, Bleichstufen oder andere Vor- und/oder Nachbehandlungen in Ein- oder Mehrzahl eingesetzt werden können, wie alkalisches Leaching, alkalische Extraktion, Wäsche, Saure Behandlung, Q-Stufe, O₂-Delignifizierungsstufe, Peroxidbleichstufe, O₂- unterstützte Peroxidstufe, Druckperoxidstufe, Persäurestufe, persäureunterstützte O₂- bzw. Peroxidstufe, Ozonbleichstufe, Dioxiranstufe, Polymetoxalat-Stufe Cl-Delignifizierungsstufe, ClO₂ -Bleichstufe, Cl/ClO₂ - Bleichstufe, reduktive Bleichstufen, Sulfonierungsstufen, NO/NO₂- Behandlungen, Nitrosylschwefelsäure-Behandlung, Quellstufen, Enzymbehandlungen wie z.B. Behandlungen mit Hydrolasen wie Cellulasen und/oder Hemicellulasen (z.B. Xylanase, Mannanase etc.) und/oder Pektinasen und/oder Proteinasen

und/oder Lipasen und/oder Amidasen und/oder Oxidoreduktasen wie z.B. Laccasen und/oder Peroxidasen etc. bzw. mehrere kombinierte Behandlungen.

15) Verwendung des Oxidations- und/oder Bleichsystems nach Anspruch 1 bis 13 in einem Verfahren zur Delignifizierung und /oder Veränderung und/oder Bleiche von Zellstoffen aus Holz und Einjahrespflanzen und Holzstoffen und Deinkstoffen, wobei es in mehreren Stufen durchgeführt wird, wobei zwischen jeder Stufe eine Wäsche oder eine Wäsche und eine Extraktion mit Lauge oder weder Wäsche noch Extraktion stattfindet.

16) Verwendung des Oxidations- und Bleichsystems nach Anspruch 1 bis 14 für den Einsatz in der Zellstoffdelignifizierung /Bleiche, dem Einsatz bei der Behandlung von v.a. Holzstoffabwässern der Papierindustrie und Abwässer anderer Industriezweige, für den Einsatz bei der Herstellung von Ligninlösungen oder Gelen, von entsprechenden Bindern/Klebern und von Holzverbundstoffen, für den Einsatz als enzymatisches Deinksystem, für den Einsatz als Oxidationssystem bei der organischen Synthese für den Einsatz als Bleichmittel in Waschmitteln, für den Einsatz in der Beiche/Entfärbung von Textilgeweben inklusive der oxidativen Behandlung von Wolle und für den Einsatz bei der Verflüssigung von Kohle.